



شماره: ۴۱۶۱-۱۳۳۵

عنوان مقالات

- ۲۳۲..... تاثیر ترکیبی بسته‌بندی تحت خلأ و عصاره چای سبز بر تغییرات کیفی ماهی قباد (*Scomberomorus guttatus*) طی نگهداری در یخچال
 فاطمه خداری، آریانا خداطری
- ۲۴۲..... استفاده از یخ خشک در حذف ملغم گس میوه خرمالو
 نورنگ خانی و پوریا لعین میرک
- ۲۵۶..... برآورد مقایسه‌ای پارامترهای $L^*a^*b^*$ از داده‌های RGB عکس دیجیتالی با استفاده از دستگاه سنجش رنگ IMG-Pardaeesh
 سید علی صفیری
- ۲۶۵..... بررسی فعالیت آنزیم‌های اسید پاراهیدروکسی بنزویک و استرئیل آن در روغن ماهی کیتلا و امولسیون روغن در آب آن
 نهدیه ملاصدقی پوراسمان، رضا فروزش، علی شریف
- ۲۷۲..... چینه‌بایی شرایط استخراج آبی نانکلوکان از جو بدون پوشینه رقم لوت به روش سطح پاسخ
 عبدالله همدان مورگی - آرژان کویچک - محمد آلفی - سید محمد علی رضوی
- ۲۸۸..... فعالیت آنزیم‌های اسیدهای والیک و سیرینیک در روغن ماهی کیتلا و امولسیون روغن در آب آن
 نهدیه ملاصدقی پوراسمان، رضا فروزش، نهدیه جانلی، علی شریف
- ۲۹۶..... بررسی اثر ضدبخمیری سویه‌های لاکتوباسیلوس پلاتاروم جدا شده از مراحل مختلف تولید پنیر لیقوان بر مخمر رودونورولا موسلوچینوسا به‌عنوان شاخص فساد آمپبود
 فدا توری، محمد رضا عبدالنور، محمد باقر حبیبی نجفی، معصومه پیرایی
- ۳۰۹..... بررسی ویژگی‌های کلونیدی نانویوزوم‌های حاوی نانکاروان تولید شده به روش حرارتی
 بابک شترزاد، صحرای شیری، حامد هدایت کار، جلال دهقانیا
- ۳۲۰..... تولید و بررسی خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم اپزوله پروتئین سویا - کیترا
 حمیده سیرانو، ابراهیم رحیمی، ایمان شهابی فخری، بهراند آقا بزرگی
- ۳۳۰..... تاثیر روش‌های مختلف پخت بر تغییرات اسیدهای چرب آزاد، توپواینتریک اسید، فلازات سنگین (انتیل - کروم، کانت - کادمیوم، سرب) و خواص حسی ماهی آموز (*Ctenopharyngodonidella*)
 سارا گل گیس پور، آریانا خداطری و کمال خانی
- ۳۳۹..... ریزپوشانی روغن نماغ (*Menthaspicata*) با استفاده از نشاسته اصلاح‌شده
 ساره حسن زاده، محمدحسن خداداد خدایرسد، آرم پستان، محبت محبی

ادامه فهرست داخل جلد

نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران

با شماره پروانه ۱۲۴/۸۴۷ و درجه علمی - پژوهشی شماره ۳/۱۱/۸۱۰ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
۸۸/۵/۱۰

زمستان ۱۳۹۵

شماره ۵

جلد ۱۲

درجه علمی - پژوهشی این نشریه طی نامه ۳/۱۱/۴۷۶۷۳ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری تا سال ۱۳۹۳ تمدید شده است.
۹۰/۴/۱۴

صاحب امتیاز: گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
مدیر مسئول: دکتر هاشم پورآذرنگ
سر دبیر: دکتر سید محمد علی رضوی
کارشناس امور اجرایی: دکتر مسعود تقی زاده
اعضای هیات تحریریه:

دکتر محمدرضا احسانی
دکتر هاشم پورآذرنگ
دکتر محمدباقر حبیبی نجفی
دکتر اصغر خسروشاهی
دکتر مرتضی خمیری
دکتر سید محمد علی رضوی
دکتر محمد علی سحری
دکتر فخری شهیدی
دکتر ناصر صداقت
دکتر عسگر فرحناکی
دکتر رضا فرحوش
دکتر بی بی صدیقه فضلی بزاز
دکتر مهدی کاشانی نژاد
دکتر مهدی کدیور
دکتر سید علی مرتضوی
دکتر محمدجواد وریدی

استاد، تکنولوژی لبنیات، دانشگاه تهران
استاد، شیمی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
استاد، میکروبیولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد
استاد، تکنولوژی لبنیات، دانشگاه ارومیه
دانشیار، میکروبیولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
استاد، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
استاد، شیمی مواد غذایی، دانشگاه تربیت مدرس
استاد، میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
دانشیار، بسته بندی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
دانشیار، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه شیراز
استاد، شیمی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
استاد، میکروبیولوژی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
دانشیار، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دانشیار، شیمی مواد غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان
استاد، میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد
دانشیار، تکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

ناشر: گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد چاپ: مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد
شمارگان: ۲۵۰ نسخه قیمت: ۵۰۰۰ ریال (دانشجویان ۲۵۰۰ ریال)

نشانی: مشهد- کد پستی ۹۱۷۷۵ صندوق پستی ۱۱۶۳

دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی - گروه علوم و صنایع غذایی - دفتر نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران.

تلفن: ۲۰-۸۷۹۵۶۱۸ داخلی ۳۲۱ نمابر: ۸۷۸۷۴۳۰

این نشریه در پایگاههای زیر نمایه شده است:

پایگاه استنادی علوم ایران (ISC)، پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID)، بانک اطلاعات نشریات کشور (MAGIRAN)

پست الکترونیکی: ifstrj@um.ac.ir

این نشریه در سایت http://jm.um.ac.ir/index.php/food_tech/index به صورت مقاله کامل نمایه شده است.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

- ۵۳۳ تاثیر ترکیبی بسته‌بندی تحت خلاء وعصاره چای سبز بر تغییرات کیفی ماهی قباد (*Scomberomorus guttatus*) طی نگهداری در یخچال
فاطمه خدری، آناز خدانظری
- ۵۴۳ استفاده از یخ خشک در حذف طعم گس میوه خرما
اورنگ خادمی و یونس نعمتی میرک
- ۵۵۶ برآورد مقایسه‌ای پارامترهای $L^*a^*b^*$ از داده‌های RGB عکس دیجیتالی با استفاده از دستگاه سنجش رنگ IMG-Pardazesh
سید علی جعفرپور
- ۵۶۵ بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک و استر متیل آن در روغن ماهی کیلکا و امولسیون روغن در آب آن
نجمه ملاحمدی بهراسمان، رضا فروش، علی شریف
- ۵۷۲ بهینه‌یابی شرایط استخراج آبی بتاگلوکان از جو بدون پوشینه رقم لوت به روش سطح پاسخ
عبدالله همتیان سورکی - آرش کوچکی - محمد الهی - سید محمد علی رضوی
- ۵۸۸ فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسیدهای وانیلیک و سیرینجیک در روغن ماهی کیلکا و امولسیون روغن در آب آن
نجمه ملاحمدی بهراسمان، رضا فروش، سعید جانی، علی شریف
- ۵۹۶ بررسی اثر ضد مخمری سویه‌های لاکتوباسیلوس پلاتناروم جدا شده از مراحل مختلف تولید پنیر لیسوان بر مخمر رودوتورولا
موسیلوچینوسا به‌عنوان شاخص فساد آبمیوه
ندا نیری، محمدرضا عدالتیان، محمد باقر حبیبی نجفی، معصومه بحرینی
- ۶۰۹ بررسی ویژگی‌های کلوئیدی نانولیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن تولید شده به روش حرارتی
بابک قنبرزاده، صحرا بشیری، حامد همیشه‌کار، جلال دهقان‌نیا
- ۶۲۰ تولید و بررسی خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم ایزوله پروتئین سویا - کتیرا
حمیده سپردار، ابراهیم رحیمی، ایمان شهابی قهفرخی، بهزاد آقا براری
- ۶۳۰ تاثیر روش‌های مختلف پخت بر تغییرات اسیدهای چرب آزاد، تیوبارینتوریک اسید، فلزات سنگین (نیکل، کروم، کبالت، کادمیوم، سرب) و خواص حسی ماهی آمور (*Ctenopharyngodonidella*)
سارا گل‌گلی پور، آناز خدانظری و کمال غانمی
- ۶۳۹ ریزپوشانی روغن نعناع (*Menthaspicata*) با استفاد از نشاسته اصلاح شده
ستاره حسین زاده، محمدحسین حداد خداپرست، آرام بستان، محبت محبی
- ۶۵۲ تشخیص آسیب‌های سطحی ناشی از صدمات مکانیکی میوه انبه رقم کلک سرخ با استفاده از تکنیک پردازش تصاویر رنگی
محمودرضا گلزاریان، منصوره شمیلی، امید دوستی ایرانی، پیمان آذرخیش
- ۶۶۳ تأثیر غلظت‌های مختلف گلیسرول بر ویژگی‌های فیلم ترکیبی بر پایه پلی‌وینیل الکل - صمغ قدومه شیرازی
لیلا منجذب مرودشتی، مسعود یاورمنش، آرش کوچکی

- تأثیر نانوپرکننده‌های دی‌اکسیدتیتانیم و مونت‌موریلونیت بر ویژگی‌های توپوگرافی، حرارتی و نوری فیلم‌های زیست‌نانو کامپوزیت
بر پایه نشاسته
سید امیر اولیایی، بابک قنبرزاده، علی‌اکبر مؤیدی، فرهنگ عباسی
- ۶۷۸
- بهبود سازی شرایط استخراج قلیایی فیبر از سبوس برنج با روش سطح پاسخ
سارا رهبران، اعظم اعرابی
- ۶۹۶
- مقاله کوتاه پژوهشی
- تأثیر دما و میزان ماده جامد محلول بر خصوصیات فیزیکی - حرارتی عصاره مالت
فاطمه حیدری دلفارد، مسعود تقی زاده، سید محمد علی رضوی
- ۷۰۶

تشخیص آسیب‌های سطحی ناشی از صدمات مکانیکی میوه انبه رقم کلک سرخ با استفاده از تکنیک پردازش تصاویر رنگی

محمودرضا گلزاریان^{۱*}، منصوره شمیلی^۲، امید دوستی ایرانی^۳، پیمان آذرکیش^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۳

چکیده

سیستم بینایی ماشین یکی از ابزارهای قدرتمند به‌منظور خودکار کردن روش‌های درجه‌بندی محصولات کشاورزی است. در این تحقیق با استفاده از پردازش تصاویر رنگی تهیه‌شده از میوه انبه به تشخیص خرابی‌های ظاهری ناشی از صدمات مکانیکی پرداخته‌شده است. برای این منظور از میان ۸۰ عدد انبه با بازرسی چشمی تعداد ۶۰ نمونه انبه که بر روی آن‌ها لکه‌های سیاه‌رنگ ناشی از آسیب‌های مکانیکی در حین برداشت و جابجایی به وجود آمده بود، تشخیص داده شدند و از هر میوه در شرایط نوردهی یکسان تصویربرداری شد. با استخراج ویژگی‌های رنگی در سه مدل رنگی HSI, RGB و $L^*a^*b^*$ و مقایسه آماری داده‌ها مشخص شد که ویژگی‌های رنگی G و $0.16G/0.5R$ در محیط رنگی RGB به ترتیب با دقت ۹۰٪ و ۹۱/۶٪ و ویژگی‌های رنگی a^* و $0.16L^*-a^*$ از فضای رنگی $L^*a^*b^*$ به ترتیب با دقت ۹۳/۳۳٪ و ۱۰۰٪ قادر به تشخیص بافت آسیب‌دیده می‌باشند. درصد مساحت استخراج‌شده از هر نمونه به‌عنوان معیاری برای درجه‌بندی میوه انبه مورداستفاده قرار گرفت. با استفاده از روش خوشه‌بندی K میانگین نمونه‌ها به دودسته تقسیم‌بندی شدند و نقطه برش بین این دودسته با استفاده از منحنی راک برابر با ۳/۱۱ بدست آمد. مساحت منحنی راک برابر با ۱ بدست آمد که نشان‌دهنده قدرت تفکیک بالای خوشه‌بندی است.

واژه‌های کلیدی: پردازش تصویر، آسیب‌های سطحی، صدمات مکانیکی، تصاویر رنگی، انبه.

مقدمه

برداشت و فنون مناسب حمل‌ونقل و نگهداری دارند (Barchi et al., 2002). میوه‌ها در موقع برداشت (چه به‌صورت دستی یا مکانیزه) و یا در حمل‌ونقل و یا در زمان بسته‌بندی اولیه، دچار آسیب‌های مکانیکی می‌شوند. گاهی این آسیب‌ها باعث آسیب به بافت‌های داخلی میوه نیز می‌شود که ضمن تخریب بافت میوه، باعث خروج مواد داخل سلول و گسترش آسیب‌دیدگی نیز می‌شود که اکثراً ضمن از بین بردن خود میوه، میوه‌های اطراف را نیز تحت تأثیر اثرات منفی خود قرار می‌دهند (Wilson et al., 1999). یک نمونه از این آسیب‌های مکانیکی سرمازدگی محصولات کشاورزی در حین برداشت یا پس از آن می‌باشد. یکی از محصولات کشاورزی که به تغییرات دمایی بسیار حساس است و ممکن است در طی آن آسیب ببیند میوه انبه می‌باشد (Xing & Baerdemaker, 2005). انبه با نام علمی (*Mangifera indica* L.) متعلق به خانواده آناکاردیاسه^۲ و یکی از مهم‌ترین میوه‌های گرمسیری دنیا می‌باشد (Bose et al., 1990؛ hamili et al., 2012). در حال حاضر کشت انبه در ۱۱۱ کشور از ۵ قاره دنیا در

ماشین بینایی که مبتنی بر پردازش تصویر است شاخه‌ای از هوش مصنوعی می‌باشد که در آن بینایی انسان شبیه‌سازی می‌شود. از این سامانه‌ها می‌توان برای کنترل کیفیت، جداسازی و درجه‌بندی محصولات کشاورزی استفاده کرد (پوردربانی و همکاران، ۱۳۸۸). مواد کشاورزی برخلاف مواد مهندسی، بافت‌های زنده‌ای هستند که پس از برداشت از درخت یا بوته، همچنان به حیات خود ادامه می‌دهند؛ بنابراین فرایندهای پس از برداشت مانند حمل‌ونقل و بسته‌بندی باید به‌صورتی باشد که آسیب کمتری به آن‌ها وارد شود؛ بنابراین برای پایین آوردن هرچه بیشتر ضایعات نیاز به مدیریت صحیح پس از

۱ و ۳- استادیار و دانشجوی دکتری، گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، فردوسی مشهد..

۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده، دانشگاه هرمزگان.

۴- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

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

نمونه‌ها و مساحت به‌دست‌آمده از نمای بالای به‌دست‌آمده از تصاویر نمونه‌ها بود.

پوردربانی و همکاران (۱۳۸۸) از سیستم بینایی ماشین برای درجه‌بندی سیب رقم *Granny Smith* بر اساس صدمات سطحی استفاده کردند. باژن و همکاران (۱۳۸۷) از روش پردازش تصویر برای تشخیص ضرب خوردگی و زنگ سیب رقم *Golden Delicious* استفاده کردند. در این درجه‌بندی سیب‌ها در شش کلاس سالم، دم، کاسبرگ، ضرب خوردگی، زنگ دمگاه و زنگ خارج از دمگاه تقسیم شدند. برای اصلاح نواحی طبقه‌بندی‌شده به کلاس ضرب خوردگی، از ویژگی‌های رنگ مایه^۱ و اشباعیت رنگ^۲ از فضای رنگی HSI استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که دقت درجه‌بندی درست برای ۱۲۰ تصویر سیب، ۸۱/۶۶٪ است. Kang و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از سیستم ماشین بینایی به بررسی تغییرات رنگ در میوه انبه به هنگام رسیدگی پرداختند. در این پژوهش اثبات شد که مقادیر رنگ اندازه‌گیری شده برای کانال‌های a و b در سطوح انحنادار میوه انبه به ترتیب برابر با ۵۵٪ و ۶۹٪ هم‌پوشانی با مقادیر اندازه‌گیری شده برای سطوح بدون انحناء می‌باشند.

سراج‌الدین و همکاران (۱۳۹۱) در پژوهشی به طبقه‌بندی سیب بر اساس ویژگی‌های آماری و بافتی با استفاده از طبقه‌بندی ماشین بردار پشتیبان^۳ پرداختند. برای طبقه‌بندی کیفی سیب ابتدا با استفاده از روش خوشه‌بندی کا- میانگین^۴ نواحی سالم و ناسالم (خرابی، کاسه گل و دمگاه) را از هم جدا کرده‌اند. سپس با استخراج ویژگی‌های آماری و بافتی نواحی ناسالم و استفاده از طبقه‌بند ماشین بردار پشتیبان طبقه‌بندی انجام شده‌است. نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهند که ویژگی‌های بافتی نتایج بهتری نسبت به ویژگی‌های آماری موجود به دست می‌آورند به طوری که برای ویژگی‌های آماری به‌دقت طبقه‌بندی ۸۰٪ و برای ویژگی‌های بافتی دقت ۹۲٪ و در مجموع به‌دقت طبقه‌بندی ۸۶٪ رسیده‌اند.

Payne و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تخمین عملکرد محصول انبه با استفاده پردازش تصاویر دیجیتال پرداختند. نتایج این پژوهش نشان داد که از این روش می‌توان به‌منظور تخمین عملکرد محصولات کشاورزی استفاده کرد. همچنین نتایج این تحقیق حاکی از وجود همبستگی خطی بین شمارش دستی و نتایج حاصل از آنالیز تصاویر بود ($R^2 = 0.91$). Haff و همکاران (۲۰۱۳) به تشخیص آلودگی ناشی از وجود حشرات بر روی میوه انبه با استفاده از روش پردازش تصاویر ابر طیفی^۵ پرداختند. الگوریتم مورد استفاده شامل

مناطق گرمسیری تا مناطق نیمه گرمسیری در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه شمالی پراکنده می‌باشد (Victor, 1993). با تولید جهانی نزدیک به ۴۰ میلیون تن در سال ۲۰۱۰، این محصول به یکی از پنج محصول مهم جهانی (بعد از موز، پرتقال، انگور و سیب) تبدیل شده است (FAO, 2012). در ایران کشت انبه با حدود ۳۰۰ تا ۴۰۰ سال قدمت در مناطقی از بلوچستان و هرمزگان متداول است. سطح زیر کشت انبه در سال زراعی ۸۰-۱۳۷۹ در کشور ۱۶۴۰ هکتار، درختان بارور با تولید ۱۲۹۲۸ تن و متوسط عملکرد ۷۸۸۲/۹۳ کیلوگرم در هکتار و ۶۱۸ هکتار نهال باغ‌های تازه احداث بوده است (آمارنامه کشاورزی، ۸۰-۱۳۷۹). سطح زیر کشت انبه در استان هرمزگان ۲۵۶۲ هکتار و عملکرد آن در هکتار ۱۱ تن می‌باشد (حیدری و همکاران، ۱۳۹۰). سهم استان سیستان و بلوچستان ۳۴۴ هکتار درختان بارور با متوسط ۱۲۳۶۰ کیلوگرم در هکتار است که در شهرستان‌های چابهار، نیک شهر و ایرانشهر کشت شده‌اند (آمارنامه کشاورزی، ۸۰-۱۳۷۹). برداشت در مرحله رسیده (کاملاً زرد) به علت نرمی بافت میوه، سبب آسیب‌پذیر بودن میوه به صدمات فیزیکی در هنگام نگهداری و حمل‌ونقل و همچنین کاهش فرصت عرضه محصول به بازار، بخصوص بازارهای دوردست می‌شود (Prasanna et al., 2007). یکی از فاکتورهای تأثیرگذار به هنگام خرید محصولات کشاورزی از نظر مصرف‌کننده شکل ظاهری میوه می‌باشد. عوامل مختلفی ممکن است بر روی شکل ظاهری میوه‌ها تأثیرگذار باشد که در هر صورت سبب افت کیفیت و قیمت آن می‌شود؛ بنابراین درجه‌بندی میوه‌ها قبل از فروش از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد.

در این بین، استفاده از روش‌های پردازش تصویر برای اندازه‌گیری‌های ابعادی، درجه‌بندی و ارزیابی کیفی محصولات جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده است. Omid و همکاران (۲۰۱۰) به تعیین حجم و جرم مرکبات از جمله لیموترش، پرتقال و نارنگی با استفاده از تکنیک پردازش تصاویر پرداختند. برای به دست آوردن حجم نمونه از تبدیل تصویر به المان‌های مخروطی ناقص و جمع حجم المان‌ها استفاده شد. نتایج حاصل از این روش در مقایسه با روش جایجایی آب رضایت‌بخش بود به طوری که ضریب همبستگی برای لیموترش، لیموشیرین، پرتقال و نارنگی به ترتیب برابر با ۰/۹۶، ۰/۹۷، ۰/۹۸ و ۰/۹۵ به دست آمد.

Mata و همکاران (۲۰۱۲) از روش پردازش تصاویر دیجیتال به تخمین جرم انبه پرداختند. هدف از انجام این کار ارائه روشی بر مبنای جرم انبه جهت درجه‌بندی آن بوده است. برای این منظور تعداد صد عدد انبه تهیه و مورد استفاده قرار گرفت؛ و به دو گروه ۵۰ تایی تقسیم شدند. پس از وزن کردن نمونه‌ها از نمای بالای آن‌ها تصویربرداری شد و پس از تعیین مساحت نمونه‌ها از روی تصاویر، یک رابطه بین جرم و مساحت سطح آن‌ها به دست آمد. نتیجه ارزیابی این مدل روی ۵۰ نمونه دوم مستقل حاکی از ضریب همبستگی بالا بین جرم

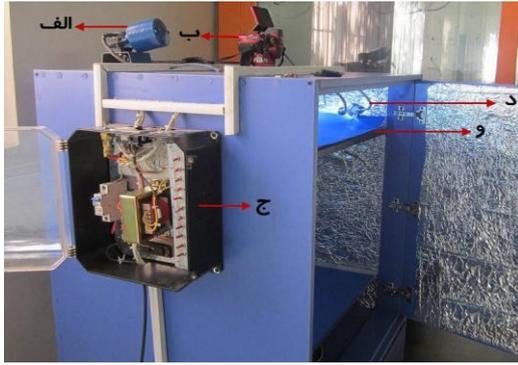
1 Hue

2 Saturation

3 Support Vector Machine

4 k-means

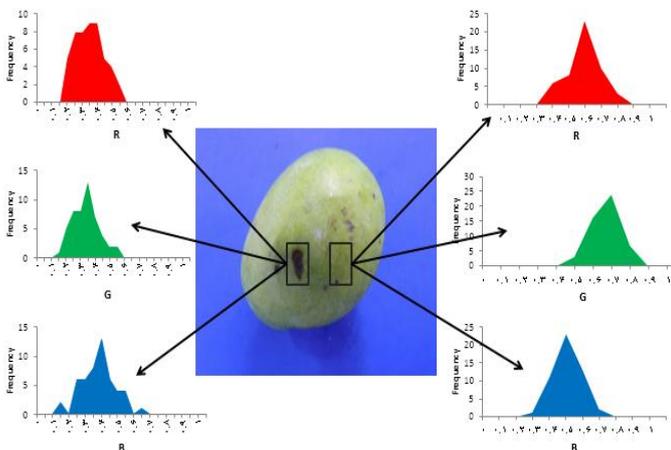
5 Hyperspectral



شکل ۱- اتاقک عکس‌برداری. الف) موتور، جهت تغییر ارتفاع صفحه‌ی پس‌زمینه. ب) دوربین که بر روی پایه‌ی اتاقک نصب شده است. ج) تابلوی کنترل روشنایی و لامپ‌های LED و راه‌اندازی موتور بالا برنده. د) لامپ LED به همراه پایه؛ و) صفحه‌ی پس‌زمینه

استخراج ویژگی

پس از تصویربرداری از نمونه‌ها تصاویر موردنظر در نرم‌افزار Matlab نسخه R2011a (Mathworks Inc, US) مورد پردازش قرار گرفتند. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود به‌منظور نمونه‌برداری از میوه انبه پس از فراخوانی تصاویر در نرم‌افزار، از هر انبه بافت آسیب‌دیده و قسمت‌هایی از بافت سالم آن انتخاب و پس از آن ویژگی‌های رنگی از نواحی موردنظر در دو محیط رنگی RGB و L^*a^*b استخراج شدند.



شکل ۲- استخراج ویژگی‌های رنگی دو بافت سالم و آسیب‌دیده انبه تبدیل مدل رنگی RGB به L^*a^*b

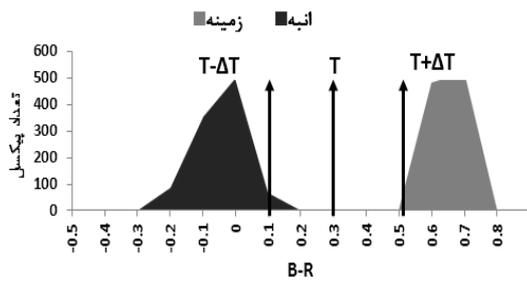
در این تحقیق از دو محیط رنگی RGB و L^*a^*b استفاده شد. مدل رنگ RGB که مدل رنگی پایه نامیده می‌شود، بر اساس این مدل هر رنگ از ترکیب مقادیری از سه رنگ اصلی قرمز، سبز و آبی تشکیل شده است. در فضای رنگی RGB مشکلی که وجود دارد این است که برای مشاهده‌گرهای مختلف نظیر انسان‌ها، سنسورها و...

حذف پیش‌زمینه، اعمال فیلتر گوسی، آستانه‌یابی و آنالیز نهایی به‌منظور تشخیص آلودگی بود. برداشت میوه انبه به علت ارتفاع زیاد درخت با مشکلاتی همراه است که سبب بروز مشکلاتی چون ایجاد صدمات سطحی بر روی آن می‌گردد؛ بنابراین این عامل سبب کاهش کیفیت میوه برای فروش داخلی و یا رقابت در بازارهای جهانی می‌گردد. آسیب‌های مکانیکی سبب بروز لکه‌های سیاه‌رنگی در سطح میوه انبه می‌گردد که علاوه بر کاهش کیفیت ظاهری ممکن است سبب تخریب بافت درونی و در درازمدت سبب تخریب کامل میوه گردد. امروزه هنوز تشخیص خرابی و درجه‌بندی محصولات در بسیاری از موارد به کمک نیروی انسانی متخصص انجام می‌شود که مستلزم وقت و هزینه زیادی است؛ بنابراین با توجه به اهمیت موضوع و تحقیقات انجام‌شده بر روی میوه انبه، شناسایی آسیب‌های سطحی و درجه‌بندی آن بر اساس معیار لکه‌های ناشی از آسیب‌های مکانیکی مورد مطالعه قرار نگرفته است؛ که هدف از این تحقیق تشخیص و شناسایی آسیب‌های سطحی میوه انبه رقم کلک سرخ با استفاده از روش‌های پردازش تصاویر دیجیتال می‌باشد. علت استفاده از روش ماشین بیانی در این پژوهش نیز، دقت و سرعت عمل بیشتر این تکنیک در مقایسه با روش‌های عمدتاً دستی است.

مواد و روش‌ها

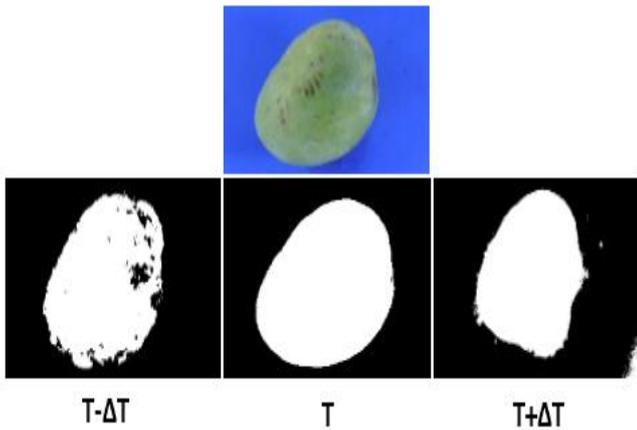
تهیه، آماده‌سازی و تصویربرداری

برای این منظور تعداد ۸۰ عدد انبه کلک سرخ در خردادماه ۱۳۹۳ از باغات میناب واقع در استان هرمزگان تهیه شد و به آزمایشگاه پردازش تصویر (دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲۲٪) گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شدند. با بازرسی چشمی تعداد ۶۰ نمونه انبه که بر روی آن‌ها لکه‌های سیاه‌رنگ ناشی از آسیب‌های مکانیکی در حین برداشت و جابجایی به وجود آمده بود، تشخیص داده شد و مورد تصویربرداری قرار گرفتند. جهت تصویربرداری از اتاقک تصویربرداری شکل ۱ استفاده شد (گلزاریان و همکاران، ۱۳۹۲). تصاویر در طیف مرئی توسط یک دوربین Nikon Coolpix P510 Nikon Inc, Japan با قدرت تفکیک ۱۶/۱ مگا پیکسل تهیه شد. به‌منظور قرارگیری کامل نمونه‌ها در حوزه دید دوربین، با توجه به فاصله کانونی لنز در دوربین فاصله بین دوربین و نمونه‌ها ۲۰ cm در نظر گرفته شد. نورپردازی مناسب به هنگام تصویربرداری سبب سهولت در آنالیز تصاویر می‌گردد. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود نورپردازی به نحوی است که از تشکیل سایه و نقاط متمرکز نوری در تصویر جلوگیری شود. همچنین از یک پس‌زمینه به رنگ آبی برای تصویربرداری استفاده شد.



شکل ۳- هیستوگرام تعیین حد آستانه مناسب به منظور جدا کردن انبه از زمینه

طبیعی است که عدم انتخاب صحیح آستانه می‌تواند سبب جدا نکردن کامل میوه از پس‌زمینه یا تشخیص قسمت‌هایی از پس‌زمینه نیز به عنوان میوه شود که در هر دو حالت این خطاها در عدم صحت مقادیر فاکتورهای رنگی و شکلی جداشده از شکل تأثیرگذار است (شکل ۴).



شکل ۴- نمایش انتخاب صحیح حد آستانه به منظور جداسازی تصویر از زمینه

قطعه‌بندی تصویر

در این مرحله لازم است که نواحی مختلف بر روی انبه از لحاظ ویژگی‌های بافتی دسته‌بندی شوند. این نواحی شامل نواحی سالم و نواحی آسیب‌دیده می‌باشند. برای این منظور از مقایسه آماری بین مؤلفه‌های رنگی استفاده کرده و با استفاده از ترسیم هیستوگرام برای هر ویژگی بهترین کانال‌های رنگی برای این منظور به دست آمد (شکل ۵). نتایج نشان داد که ویژگی‌های رنگی G و $0.16G/0.5R$ در محیط رنگی RGB و ویژگی رنگی a^* و $a^*-0.16L^*$ در محیط $L^*a^*b^*$ از سایر ویژگی‌های رنگی به منظور تشخیص مناسب‌تر می‌باشند.

به منظور تشخیص بافت آسیب‌دیده از سالم با استفاده از کانال رنگی G مقدار حد آستانه با استفاده از نمودارهای هیستوگرام (شکل

تعریف واحدی برای اطلاعات رنگی موجود نمی‌باشد. به عبارتی در فضای RGB مشخصات رنگی نیمه شهودی و وابسته به وسایل اندازه‌گیری می‌باشد. در فضای رنگی XYZ اجزای رنگ‌های پایه رنگ‌های واقعی نیستند. میزان درخشندگی رنگ در این فضا بر خلاف فضای RGB فقط به پارامتر (Y) وابسته است و بقیه پارامترها، ویژگی‌های رنگی را پوشش می‌دهند. برای تبدیل مدل RGB به مدل رنگی $L^*a^*b^*$ یکی از روش‌ها تبدیل مستقیم مقادیر RGB به $L^*a^*b^*$ می‌باشد (Leon et al., 2006). در این روش، ابتدا فضای رنگی RGB به فضای رنگی پایه XYZ تبدیل و با استفاده از رابطه ۱ مقدار L^* که بیانگر میزان درخشندگی در تصویر می‌باشد به دست می‌آید. در رابطه ۲ مقدار a^* قابل محاسبه می‌باشد که این مقدار بیانگر میزان تغییر رنگ از سبز به قرمز و در رابطه ۳ مقدار b^* به دست می‌آید که بیانگر میزان رنگ از آبی به زرد است.

$$L^* = \begin{cases} 116 \left(\frac{Y}{Y_n}\right)^{1/8} - 16 & \text{if } \frac{Y}{Y_n} > 0,008856 \\ 903,3 \left(\frac{Y}{Y_n}\right) & \text{if } \frac{Y}{Y_n} \leq 0,00856 \end{cases} \quad (1)$$

$$a^* = 500 \left[\left(\frac{X}{X_n}\right)^{1/3} - \left(\frac{Y}{Y_n}\right)^{1/3} \right] \quad (2)$$

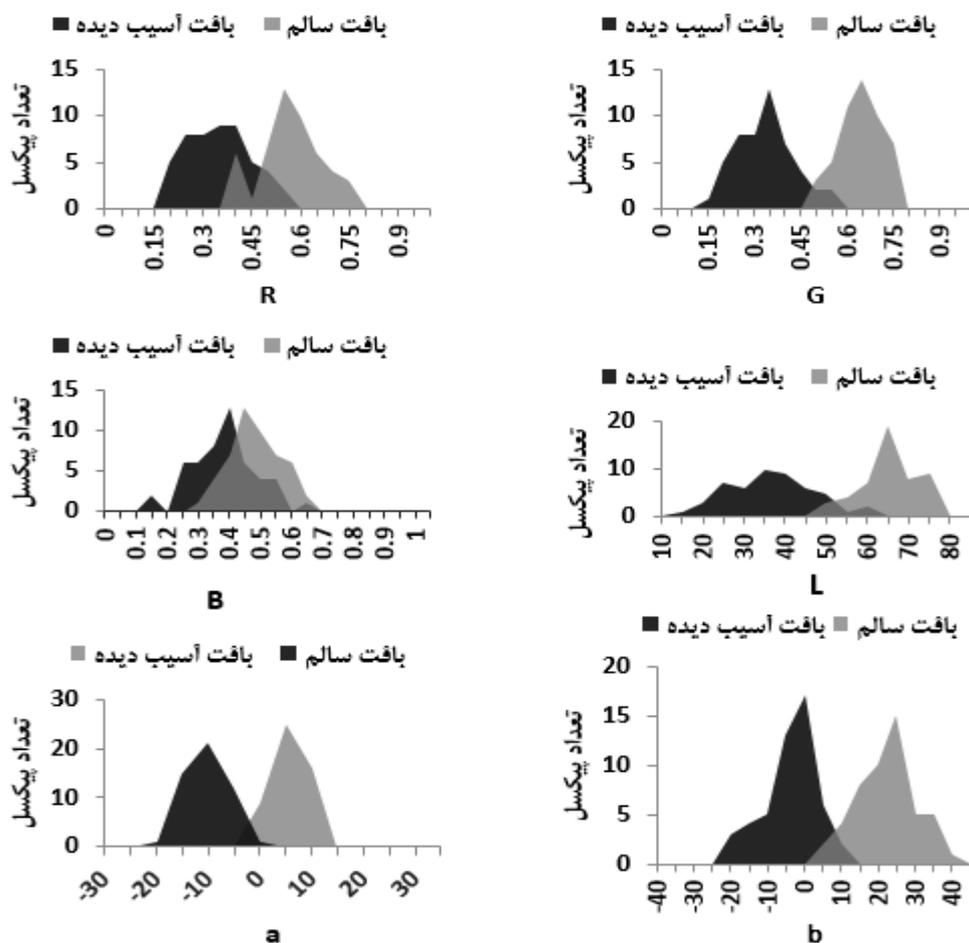
$$b^* = 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_n}\right)^{1/8} - \left(\frac{Z}{Z_n}\right)^{1/8} \right] \quad (3)$$

جداسازی انبه از پس‌زمینه و نمایش باینری تصویر

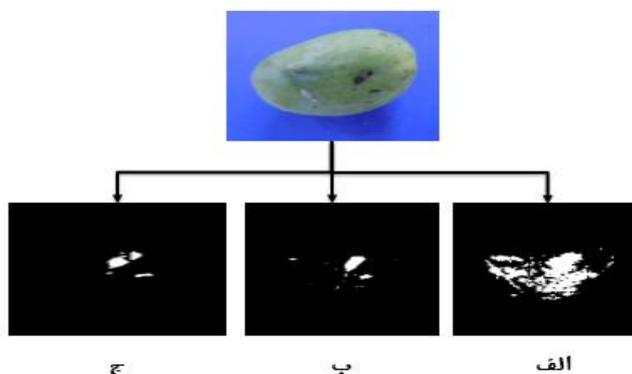
یکی از مهم‌ترین مراحل اصلی و اولیه در پردازش تصویر و استخراج اطلاعات از تصاویر به منظور خودکار کردن یک فرآیند جداسازی شی موردنظر از پس‌زمینه است که در حوزه پردازش تصویر به نام قطعه‌بندی یا بخش‌بندی نیز شناخته می‌شود. دقت و عملکرد الگوریتم بخش‌بندی در کیفیت ویژگی‌هایی که از تصاویر استخراج می‌شود و در مراحل بعدی پردازش مورد استفاده قرار می‌گیرند تأثیرگذار است. یکی از روش‌های معمول به منظور بخش‌بندی و جداسازی تصویر از زمینه آن، استفاده از آستانه‌گیری با استفاده از هیستوگرام تصویر می‌باشد. با استفاده از هیستوگرام تصویر، می‌توان بهترین حد آستانه را برای جداسازی بدست آورد. جهت جدا کردن تصویر انبه از پس‌زمینه به دلیل رنگ آبی پس‌زمینه از تفاضل دو کانال رنگی قرمز (R) و آبی (B) استفاده شد. مقدار حد آستانه بهینه به منظور جداسازی انبه از پس‌زمینه برابر با $0/3$ در نظر گرفته شد (شکل ۳).

ناصحیح در تصویر موردنظر گردد. در شکل ۷ مراحل تشخیص بافت آسیب‌دیده با استفاده از کانال رنگ سبز نمایش داده شده است. پس از نمایش باینری تصویر ناحیه موردنظر با استفاده از حد آستانه به دست آمده جدا شد.

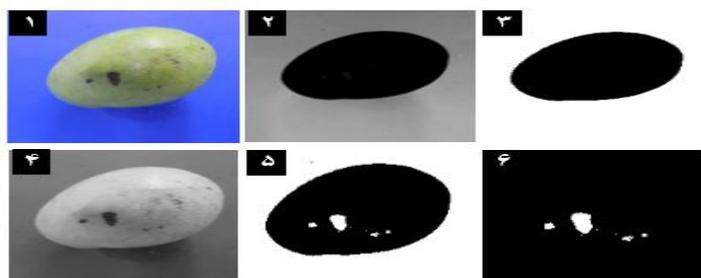
(۵) برابر با ۰/۴ در نظر گرفته شد. طبیعی است با کاهش این مقدار به ۰/۳ یا افزایش آن به ۰/۵ ممکن است میزان خطای تشخیص دچار تغییر شود. در شکل ۶ نحوه تشخیص بافت آسیب‌دیده با مقادیر کمتر و بیشتر از حد آستانه نمایش داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تغییرات جزئی در انتخاب آستانه می‌تواند سبب تشخیص



شکل ۵- هیستوگرام حاصل از کانال‌های رنگی بین دو بافت سالم و آسیب‌دیده

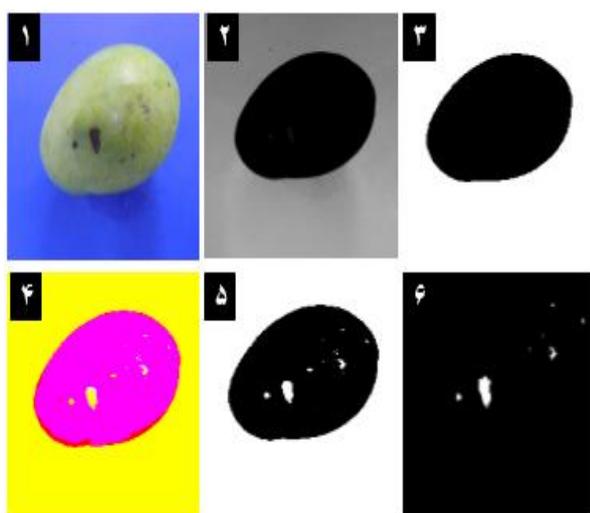


شکل ۶- تشخیص بافت آسیب‌دیده با مقادیر کمتر و بیشتر از حد آستانه با استفاده از کانال رنگی G. (الف)، حد آستانه ۰/۵ (ب)، حد آستانه ۰/۴، (ج)، حد آستانه ۰/۳

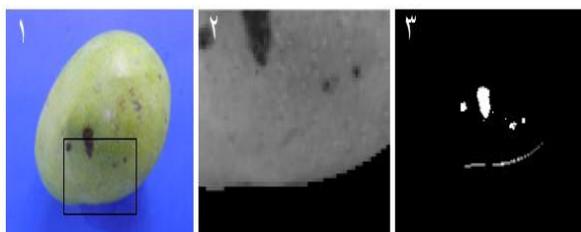


شکل ۷- تصویر اولیه. (۲) تصویر حاصل از تفاضل دو کانال آبی و قرمز. (۳) تصویر باینری شده. (۴) نمایش کانال سبز تصویر. (۵) جداسازی بافت آسیب‌دیده با استفاده از حد آستانه ۴/۰ (۶) جداسازی ناحیه آسیب‌دیده

استفاده شد. در شکل ۱۰ نمونه‌ای از این تصاویر مشاهده می‌شود.



شکل ۹- تصویر اولیه (۲) تصویر حاصل از تفاضل دو کانال آبی و قرمز. (۳) تصویر باینری شده. (۴) تصویر تبدیل شده از محیط RGB به محیط L^*a^*b . (۵) نمایش کانال a تصویر. (۶) جداسازی بافت آسیب‌دیده با استفاده از حد آستانه

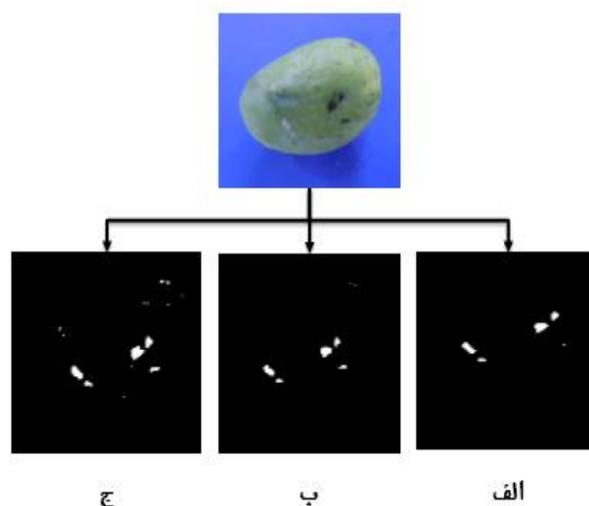


شکل ۱۰- نمایش لبه‌های تصویر در تصویر خروجی. (۱) تصویر اصلی. (۲) کانال سبز تصویر. (۳) جدا شدن ناحیه آسیب‌دیده به همراه قسمتی از لبه تصویر

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها شامل خوشه‌بندی به روش کا- میانگین از نرم‌افزار SPSS 16 و برای درجه‌بندی داده‌ها و رسم

حساسیت تعیین آستانه مناسب با استفاده از کانال رنگی a^* در شکل ۸ نمایش داده شده است. با تغییر در این مقدار نیز نحوه نمایش بافت آسیب‌دیده دچار تغییر می‌شود. در شکل ۸ در قسمت‌های (الف) و (ج) به ترتیب تصاویر خروجی حاصل از مقادیر بیشتر و کمتر از حد آستانه نمایش داده شده است. به دلیل وجود بازتابش نور متفاوت در لبه‌های تصویر و یکنواخت نبودن نورپردازی لبه‌های تصویر ایجاد غیریکنواختی در رنگ می‌کنند. به هنگام باینری نمودن تصویر ممکن است لبه‌های آن به خوبی جدا نشوند و یا پیکسل‌هایی در لبه‌ها وجود داشته باشد که مقادیر آن‌ها با مقادیر رنگی ناحیه موردنظر یکسان باشد که نتیجه آن لبه سفیدرنگی در تصویر نهایی می‌باشد.



شکل ۸- تشخیص بافت آسیب‌دیده با مقادیر کمتر و بیشتر از حد آستانه با استفاده از کانال رنگی a^* . (الف)، حد آستانه ۰ (ب)، حد آستانه ۲- (ج)، حد آستانه ۵-.

این موارد سبب خطا در تشخیص می‌شوند به‌عنوان مثال اگر مساحت ناحیه آسیب‌دیده موردنظر باشد در تعیین مقدار واقعی مساحت با خطا همراه است. برای غلبه بر این مشکل از روش‌های مورفولوژیکی سایش و افزایش با امان ساختاری خطی برای حذف نواحی که به دلیل عدم یکنواختی نورپردازی احتمال ایجاد آن می‌رود

از ۱۵ درصد باشد و در گروه سوم نمونه‌هایی قرار می‌گیرند که مساحت ناحیه آسیب‌دیده در آن‌ها بیشتر از ۲۵ درصد باشد. با توجه به این استاندارد می‌توان میوه‌های انبه با مساحت آسیب‌دیدگی کمتر از ۵ درصد را درجه ۱، بین ۵ تا ۱۵ درصد را درجه ۲ و بین ۱۵ تا ۲۵ درصد را درجه سه نام‌گذاری کرد.

در این تحقیق با استفاده از روش خوشه‌بندی k میانگین به خوشه‌بندی درصد مساحت‌های حاصل از الگوریتم تشخیص ناحیه آسیب‌دیده بر مبنای رابطه $0.16L^* - a^*$ پرداخته شده است. در جدول ۲ نتایج حاصل از خوشه‌بندی درصد مساحت ناحیه آسیب‌دیده در دو خوشه بیان شده است.

جدول ۱- بیان دقت تشخیص ناحیه آسیب‌دیده با استفاده از

الگوریتم‌های مختلف

ویژگی‌های رنگی	تعداد نمونه	تشخیص	عدم تشخیص	دقت الگوریتم
a	۶۰	۵۶	۴	۹۳/۳۳٪
G	۶۰	۵۴	۶	۹۰٪
0.16G/0.5R	۶۰	۵۵	۵	۹۱/۶۶٪
0.16L*-a*	۶۰	۶۰	۰	۱۰۰٪

جدول ۲- نتایج حاصل از خوشه‌بندی درصد مساحت آسیب‌دیدگی

شماره خوشه	تعداد اعضا	میانگین	انحراف معیار	انحراف استاندارد
۱ (درجه ۲)	۱۵	۴/۶۶	۱/۰۵	۰/۲۷
۲ (درجه ۱)	۴۵	۱/۱۹	۰/۷۱	۰/۱۰

به منظور مقایسه نتایج حاصل از خوشه‌بندی با استاندارد آمریکایی (USDA) از ماتریس درهم ریختگی به صورت جدول ۳ استفاده شد. در سطرهای این جدول دسته‌بندی بر اساس استاندارد آمریکایی و در ستون‌های این جدول دسته‌بندی بر اساس خوشه‌بندی داده‌ها به روش k میانگین بیان شده است. از نمونه‌های موجود ۴۵ نمونه هم در درجه ۱ استاندارد آمریکا و هم درجه ۱ خوشه‌بندی قرار می‌گیرند ولی ۱۰ نمونه درحالی که در درجه ۱ استاندارد آمریکا قرار می‌گیرند در درجه ۲ خوشه‌بندی، دسته‌بندی می‌شوند. ۵ نمونه باقی‌مانده هم در درجه ۲ استاندارد آمریکا و هم در درجه ۲ خوشه‌بندی قرار می‌گیرند.

با توجه به اینکه در خوشه‌بندی انجام‌شده نمونه‌ها در دو خوشه در بهترین حالت قرار گرفتند لازم است یک نقطه به منظور مرز بین این دو درجه مشخص شود. این نقطه، نقطه برش نامیده می‌شود. برای این منظور از منحنی راک^۵ استفاده شد (شکل ۵). در این روش همه مشاهدات به صورت یکی یکی جهت دسته‌بندی مورد ارزیابی قرار می‌گیرند و نتایج آن با دسته‌بندی موجود در استاندارد اصلی مقایسه

منحنی راک و انتخاب بهترین نقطه برش^۱ از نرم‌افزار آنالیز آماری (Stata Corp) STATA استفاده شده است. منحنی راک نموداری است که از تقسیم نسبت حساسیت (میزان مثبت واقعی) بر میزان مثبت کاذب بدست می‌آید. در این حالت هرچه منحنی به گوشه چپ نمودار بیشتر باشد، صحت آن بیشتر است. در مورد آنالیزهای بکار رفته جلوتر توضیح داده خواهد شد.

نتایج و بحث

پس از بررسی ویژگی‌های رنگی و ترکیب آن‌ها با یکدیگر بهترین حالات به منظور تشخیص آسیب‌های سطحی میوه انبه انتخاب شدند که در جدول (۱) دقت هر کدام از این ویژگی‌ها به تفکیک بیان شده است. با استفاده از کانال رنگی a^* از میان ۶۰ نمونه مورد آزمایش تنها ۵۶ نمونه آسیب‌دیدگی تشخیص داده شد که دقت الگوریتم مورد استفاده در این حالت برابر با ۹۳/۳۳٪ است. با استفاده از کانال رنگی G از ۶۰ نمونه مورد آزمایش ۵۴ مورد تشخیص داده شد و دقت الگوریتم به دست آمده در این حالت برابر با ۹۰٪ بدست آمد. با استفاده از ترکیب کانال‌های رنگی سبز و قرمز به صورت 0.16G/0.5R از ۶۰ نمونه مورد آزمایش در ۵۵ نمونه آسیب‌دیدگی سطحی تشخیص داده شد و دقت الگوریتم مورد استفاده برابر با ۹۱/۶۶٪ به دست آمد. در ترکیب دو کانال L^* و a^* به صورت رابطه $0.16L^* - a^*$ در ۶۰ نمونه مورد آزمایش آسیب‌دیدگی سطحی تشخیص داده شد و دقت الگوریتم مورد استفاده در این حالت برابر با ۱۰۰ درصد به دست آمد که نسبت به ویژگی‌های دیگر بیشتر است. در محیط رنگی $L^*a^*b^*$ تأثیر نور و بازتابش از محیط اطراف نمونه سبب تغییر در مقادیر رنگی نمی‌گردد؛ بنابراین یکی از دلایل خطای به وجود آمده در محیط رنگی RGB می‌تواند ناشی از تابش غیریکنواخت نور و ایجاد نقاط متمرکز نوری یا نقاط تاریک بر روی نمونه باشد.

یکی از استانداردهای موجود برای درجه‌بندی میوه انبه با استفاده از خرابی‌های سطحی استفاده از درصد مساحت خرابی که از نسبت مساحت خرابی به مساحت کل میوه انبه بدست می‌آید محاسبه می‌شود. در استانداردهای آمریکایی (USDA, 2006) میوه انبه بر اساس درصد خرابی‌های سطحی در سه گروه آسیب‌دیدگی جزئی^۲، آسیب‌دیدگی متوسط^۳ و آسیب‌دیدگی با شدت زیاد^۴ تقسیم‌بندی شده‌اند. در گروه اول نمونه‌هایی قرار می‌گیرند که مساحت ناحیه آسیب‌دیدگی در آن‌ها بیشتر از ۵ درصد باشد. در گروه آسیب‌دیدگی متوسط نمونه‌هایی قرار می‌گیرند که مساحت ناحیه آسیب‌دیده بیشتر

- 1 Cut Point
- 2 Injury
- 3 Damage
- 4 Serious damage

بیشتر باشد، منحنی بالای قطر مربع به حالت ایده آل (مساحت یک) نزدیک‌تر خواهد بود. با توجه به نتایج حاصل در جدول ۴، در این آزمایش از تعداد ۶۰ مشاهده مقدار مساحت در منحنی راک برابر با ۱، خطای استاندارد برابر با صفر و نقطه برش نیز برابر با ۳/۱۱ به دست آمد.

می‌شوند؛ و دو مقیاس حساسیت و قدرت تشخیص گزارش داده می‌شود؛ بنابراین نقطه‌ای که در آن هم حساسیت و هم قدرت تشخیص برابر با یک باشد به‌عنوان مرز بین دو گروه معرفی می‌شود. در این نمودار محور عمودی بیانگر حساسیت و محور افقی بیانگر قدرت تشخیص می‌باشد. هرچه قدرت تشخیص و حساسیت این تست

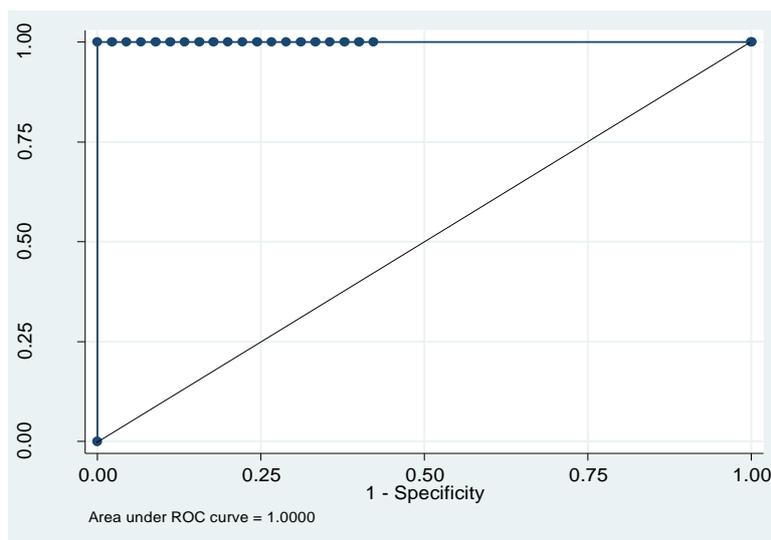
جدول ۳- ماتریس درهم ریختگی کلاس‌بندی بر اساس استاندارد آمریکا

نتیجه کلاسه‌بندی الگوریتم			
کل	درجه ۲	درجه ۱	
۵۵	۱۰	۴۵	درجه ۱
۵	۵	۰	درجه ۲
۶۰	۱۵	۴۵	کل

استاندارد آمریکا

جدول ۴- نتایج حاصل از آزمون راک

تعداد مشاهدات	مساحت منحنی	خطای استاندارد	نقطه برش
۶۰	۱	۰	۳/۱۱



شکل ۱۱- منحنی راک

به‌منظور درجه‌بندی با استفاده از منحنی راک نقطه برش ۳/۱۱ بدست آمد. با توجه به استعداد استان هرمزگان از نظر شرایط آب و هوایی، امکان توسعه سطح زیر کشت انبه به‌منظور مصرف تازه‌خوری، صادرات و نیز ایجاد صنایع غذایی وابسته وجود دارد. از این‌رو جهت افزایش تولید و توسعه سطح زیر کشت این محصول، توجه به درجه‌بندی آن با توجه به شاخص‌های حاصل از تحقیق جهت عرضه محصول مرغوب و باکیفیت بالا به بازارهای داخلی و جهانی توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

دقت روش پردازش تصویر تحت هیچ شرایطی از روش‌های معمول شناسایی صدمات سطحی کمتر نیست؛ بنابراین در این تحقیق درجه‌بندی میوه انبه بر اساس خرابی‌های سطحی ناشی از صدمات مکانیکی صورت گرفت. برای تشخیص این آسیب‌ها از چهار ویژگی رنگی a^* ، G ، $0.16G/0.5R$ و $0.16L^*-a^*$ استفاده شد که دقت الگوریتم‌ها به ترتیب برابر ۹۳/۳۳، ۹۰، ۹۱/۶۶ و ۱۰۰ درصد بدست آمد. پس از تعیین مساحت، آسیب‌های سطحی فاکتور مساحت آسیب‌دیدگی محاسبه شد و با استاندارد USDA مقایسه گردید و

قدردانی

بخشی از منابع این پروژه را تأمین نموده‌اند، سپاسگزاری می‌نمایند.

بدین وسیله نگارندگان از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشکده-های کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و دانشگاه هرمزگان که

منابع

- Agricultural statistics for the years 2010-2012 (Persian Calendar: 1379-1380). Department of Budget and Planning, Statistics and Information Office, Ministry of Agriculture Jihad. Tehran (in Persian).
- Barchi, G.L., Berardinelli, A., Guarnieri, A., Ragni, L. & Totaro Fila, C., 2002, Damage to loquasts by vibration-simulating intra-state transport. *Biosyst Eng*, 82, 305-312.
- Bazhan, M., & Kabir, E. (2007). Detection of Surface Defects on Apples for Quality Grading. *Iranian Journal of Electrical and Computer Engineering*, 6, 25-34. (in Persian).
- Bose, T.K. & Mitra. S.K., 1990. Fruits: Tropical and subtropical. Naya Prokash Pub., Calcutta, India.
- FAO, 2012, FAO Statistics database, accessed on 22nd december (2014), from <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>. Accessed August 2012.
- Golzarian, M. R. , Sadeghi F., Ghanei-Ghooshkhaneh N. , Kazemi F. , 2016, A qualitative and quantitative approach to assessing the performance of contrast enhancing colour indices used in automatic computer vision plant identification system. The 8th National Congress on Agricultural Machinery (Biosystems) Engineering and Mechanization, Mashhad, Iran. (in Persian).
- Haff, R.P., Saranwong, S., Thanapase, W., Janhira, A., Kasemsumran, S. & Kawano. S., 2013. Automatic image analysis and spot classification for detection of fruit fly infestation in hyperspectral images of mangoes. *Postharvest Biol Tec*, 86, 23-28.
- Heidari, M. , Dastjerdi, A. , & Moradi, N. (2011). Effects of Potassium Permanganate and Storage Time on Quality of Mango Fruits (*Mangifera indica L.*). *Journal of Horticulture Science*, 25(2): 130-136. (in Persian).
- Kang, S.P., East, A.R. & Trujillo, F.J., 2008. Colour vision system evaluation of bicolour fruit A case study with 'B74' mango. *Postharvest Biol Tec*, 49, 77-85.
- Leon, K., Mery, D., Pedreschi F. & Leon, J., 2006. Color measurement in L* a* b* units from RGB digital images. *Food Res Int*, 39, 1084-1091.
- Mata, C., Duarte, M.E.M., Borges, F.F. & Barbacena, I.L., 2012, An adaptive threshold level for segmentation of grayscale images using image processing to sort mangoes by weight estimation. *Postharvest Technology in the Global Market*.
- Omid, M., Khojastehnazhand, M. & Tabatabaeefar, A., 2010, Estimating volume and mass of citrus fruits by image processing technique. *J Food Eng*, 100, 315-321.
- Payne, A.B., Walsh, K.B., Subedi, P.P. & Jarvis, D., 2013, Estimation of mango crop yield using image analysis – Segmentation method. *Comput Electron Agric*, 91, 57-64.
- Pordarbani, R., Gasemzadeh, H., Golzadeh, A., & Behfar, a. H. (2009). Feasibility Study of Apple Quality Grading Using Image Processing. *Journal of Food Research*, 19, 75-85. (in Persian).
- Prasanna, V., Prabha, T.N. & Tharanthan, R.N., 2007. Fruit ripening phenomena—an overview, *Crc Cr Rev Food Sci*. 47, 1-19.
- Shamili, M., Fatahi, R. & Hormaza, J.I., 2012, Characterization and evaluation of genetic diversity of Iranian mango (*Mangifera indica L*, Anacardiaceae) genotypes using microsatellites. *Sci. Horticult*, 148, 230-234.
- Srajaldin, A., Moalem, P., & Pourghasem, H. (2012). Apple Classification using statistical characteristics and tissue using SVM classifier. First National Conference on New Ideas in Electrical Engineering. Islamic Azad University Isfahan (Khorasgan) Branch, Esfahan, Iran (in Persian).
- USDA. 2006. Mangos. Shipping Point and Market. Inspection Instructions, accessed on 2/12/2014 from <http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/>
- Victor, S., 1993. The situation of mango culture in the word. *Acta Hort*, 341, 31-41.
- Wilson, L.G., Boyette, M.D. & Estes, E.A., 1999, Postharvest Handling and Cooling of Fresh Fruits, Vegetables, and Flowers for Small Farms. *NCCES*. 804.
- Xing, J. & Baerdemaker, J.D., 2005, Fresh bruise detection on selected cultivars apples using visible and NIR spectroscopy. *Postharvest Biol Tec*, 45, 176-183.



Detection of surface defects caused by mechanical damages on Mangos of Kelk-e Sorkh variety with the use of color image processing

M. R. Golzarian^{1*}, M. Shamili², O. Doosti Irani³, P. Azarkish⁴

Received: 2015.11.25

Accepted: 2016.03.13

Introduction: Machine vision, which uses image processing techniques, is a branch of artificial intelligence that simulates human vision. These systems can be used for quality control, sorting and grading of agricultural products. Unlike engineering materials, agricultural fruits are living tissues that continue living even after they are harvested from trees or bushes. Therefore, the post-harvest process such as handling and packaging need to be done such that they make the least damage to these products (Barchi et al., 2002). Combination of suitable techniques and post-harvest management is required to bring down the waste loss in this supply chain. Fruits are susceptible to receive mechanical damages during harvesting (either manually or mechanized), or in transport or at the time of initial packaging. These damages may cause damage to the internal tissue of the fruit that subsequently causes the internal substances of the damaged cell leave spread out. While eradicating the fruit, the surrounding fruits are also affected negatively. Mangos are sensitive to mechanical and thermal sudden change (Xing & Baerdemaker, 2005). Today, surface defect detection and grading of many fruits including mangos are still performed in many cases with the help of trained workers which is time consuming and cost effective. Image processing has been successfully used for measurement and calibration of products; it shows also a good potential to be used for assessing the quality of products (Mata et al, 2012). There has been no or very little research on the quality assessment of mangos based on the dark spots on the skin surface of mango fruits. The aim of this study was to detect and identify surface damage in mangoes of Kelk-e Sorkh cultivar using digital image processing as it has higher accuracy and processing speed as opposed to manual detection.

Materials and methods: Mango fruits were picked from a garden in Minab in Hormozgan province, in Iran. Sixty samples were selected for imaging. These samples had black spots on the skin surface due to mechanical damages received during harvesting and handling. The imaging was performed in a homogeneously controlled lighting condition (in an imaging box) against a blue sheet as background and at 24°C and 22% RH. The images were taken in visible range with a Nikon Coolpix P510 digital camera (Nikon Inc, Japan) of 4928 x 3264 dimensions (16.1 MP resolution). Considering the camera lens's focal length, the samples were placed 20 cm under the camera's lens to be in camera's field of view. The taken images were read and analyzed in Matlab (Ver 2011a, Mathworks Inc, US). The quality of segmentation process, which is an important step in image processing project, affects the quality of information extracted from the objects or regions of interest (ROIs) in the next steps. The images of mangos were segmented from the background using thresholding of the high contrast images of red and blue difference. The optimum threshold value was obtained to be 0.3. Then, the affected and healthy regions of mangos were specified manually in each image. Then, the color features in two L*a*b* and RGB and HSI color models were extracted from each region on the sample surface.

Results and discussion: The statistical analysis of these features showed that the accuracies for detecting the surface defects on mangos were 90% and 91.6% using the color factor of G and $0.16 \cdot G / 0.5R$ in RGB color space, respectively. However, from the a* data, only 56 samples were correctly classified as damaged. This showed the classification accuracy of 93.33% using this color parameter. The accuracy reached to 100% when the two color parameters of a* and L* was used as an integrated color parameter of $0.16 \cdot L - a^*$. In L*a*b* color space, the influence of ambient light on the color of samples is trivial and much less than that on RGB. This can be the reason for higher classification error when R, G and B color components, which might be due to non-

1 And 3- Assistant professor and PhD student, Department of Biosystems Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Assistant professor, Department of Horticultural Sciences, Hormozgan University, Iran.

4- Former MSc student, Department of Horticultural Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

(* Corresponding author email address: m.golzarian@um.ac.ir)

uniform lighting and the existence of highly bright or highly dark points on the surface of samples. According to USDA standard, the ratio of the size of defect region to the size of whole fruit can be used as an indicator for grading mangos (USDA, 2006). In this research, the k-means clustering was used to group the mangos based on their defect region size. The results showed that the mangos could be classified into three categories of grade 1, with the defect size of less than 5% of the total area, grade 2: when the defect region size was between 5 and 15% and grade 3: when the defect area size was more than 15% and less than 25%. By K-means clustering, the samples were grouped in two clusters. The cut-off point between two clusters was found from the ROC curve to be 3.11. The parameter of ROC area was equal to unity, which indicated the high discrimination capability of the clustering model.

Conclusion: In this research, after assessing several color factors and their combinations, four color components of a^* , green (G), $2G/R$ and $L^*-0.16a^*$ were selected and used for classifying mechanically defected mangos and the results were promising. The results of this research and similar ones can provide helpful recommendations in grading mangos considering the higher capability of Hormozgan province in Iran for producing mangos for fresh consumption, being used in high-quality domestic market, being exported to global markets.

Keywords: Image processing, Surface defects, Mechanical damages, Color images, Mango

استفاده از یخ خشک در حذف طعم گس میوه خرمالو

اورنگ خادمی^{۱*} و یونس نعمتی میرک^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۲۱

چکیده

گسی میوه در خرمالو یک صفت نامطلوب است که کاهش آن مستلزم برداشت میوه در زمان رسیدگی کامل و نرم شدن میوه می‌باشد. با این حال برداشت میوه در زمان بلوغ تجاری و رفع گسی با استفاده از ترکیبات مناسب می‌تواند در افزایش کیفیت میوه و بازاریابی آن موثر باشد. در این پژوهش، رفع گسی میوه دو رقم خرمالو با نام‌های رایج رقم کرج و رقم ژاپنی با استفاده از دی‌اکسیدکربن جامد (یخ خشک) و اتانول بررسی شد. نتایج نشان داد تیمار یخ خشک به خصوص در غلظت بالا (۷٪)، در هر دو رقم موجب رفع گسی میوه و کاهش غلظت تانن محلول به زیر ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم شد ولی تیمار اتانول فقط در رقم کرج موثر بود. تیمارهای مورد استفاده سفتی بافت میوه را در هر دو رقم بطور معنی‌داری کاهش دادند ولی تیمار اتانول در مقایسه با تیمار یخ خشک سفتی بافت میوه را بیشتر کاهش داد. مقدار مواد جامد محلول در اثر تیمارهای رفع گسی در هر دو رقم به دلیل کاهش مقدار تانن محلول کاهش یافت ولی مقدار اسید آسکوربیک در این دو رقم تحت تاثیر تیمار رفع گسی قرار نگرفت. نتایج کلی نشان داد تیمار یخ خشک به‌عنوان تیماری موثر و ارزان قیمت، بصورت تجاری می‌تواند برای رفع گسی میوه خرمالو تولید شده در ایران مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تانن محلول، خرمالو، سفتی، طعم گس، یخ خشک

مقدمه

گردیده و گسی آن توسط تیمارهایی همانند گاز دی‌اکسیدکربن، یخ خشک یا بخار اتانول، حذف می‌شود (Ito, 1971, Taira, 1996). در واقع استفاده از هر تیماری که گسی میوه خرمالو را در زمان بلوغ تجاری با سفتی بافت مناسب از بین ببرد در افزایش بازاریابی آن بسیار مفید خواهد بود (Mostofi et al., 2008).

عامل ایجاد طعم گس در میوه خرمالو وجود تانن‌های محلول در بافت آن می‌باشد که برای حذف طعم گس می‌بایست این تانن‌ها بصورت غیرمحلول در آیند (Gazit and Adato, 1972). حد بحرانی غلظت تانن محلول برای ایجاد طعم گسی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد، بنابراین تیماری در حذف طعم گس میوه خرمالو موثر خواهد بود که غلظت تانن محلول در بافت آن را به زیر ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش یابد (Arnal and Delrio, 2003).

از روش‌های رایج در از بین بردن طعم گس میوه خرمالو استفاده از اتمسفر اشباع از دی‌اکسیدکربن و یا استفاده از بخار الکل اتیلیک می‌باشد که در این بین روش اول در بسیاری از کشورهای عمده تولید کننده خرمالو استفاده تجاری دارد (Ito, 1971, Taira, 1996). البته روش‌هایی همانند استفاده از تیمار آب گرم و اتیلن نیز در برخی مناطق در سطح محدود استفاده می‌شود (Chung et al., 2014).

مکانیزم عمل تیمار دی‌اکسیدکربن در رفع طعم گس شامل دو مرحله می‌باشد؛ در مرحله اول دی‌اکسیدکربن با فعالیت آنزیم مالیک و طی مسیری موسوم به مسیر تثبیت تاریکی دی‌اکسیدکربن تبدیل به

میوه خرمالو خوراکی (*Diospyros kaki* Thunb.) متعلق به شرق آسیا بوده و با نام خرمالوی ژاپنی شناخته می‌شود (Gazit & Adato, 1972). خرمالو یکی از میوه‌های مهم فصل پائیزی در ایران بشمار می‌رود که البته ارقام موجود در ایران بیشتر از انواع گس می‌باشند. تولیدکنندگان این میوه در ایران، به علت وجود طعم گس در زمان بلوغ تجاری، آن را در زمان رسیدگی مفرط برداشت و عرضه می‌نمایند (Khademi, 2006, Khademi et al., 2008, Mostofi et al., 2008, Zamani et al., 2008). چرا که در این حالت با تخریب دیواره سلولی و اتصال پکتین با تانن شدت طعم گس کاهش می‌یابد (Taira and Ono, 1997, Taira et al., 1997). ولی برداشت دیر هنگام موجب نرم شدن بیش از حد میوه‌ها شده و با کاهش شدید بازاریابی و قابلیت حمل و نقل میوه همراه است (Khademi et al., 2010). در شرق آسیا به عنوان موطن اصلی و عرضه‌کننده اصلی این میوه همانند ایران اکثر باغ‌های تجاری خرمالو از انواع گس تشکیل شده است (Luo, 2006). منتهمی در این کشورها خرمالوهای گس در زمان بلوغ تجاری با سفتی مناسب برداشت

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران.

* - نویسنده مسئول: (Email: o.khademi@shahed.ac.ir)

شامل ۲۰ میوه به‌عنوان سه تکرار تقسیم‌بندی و برای اعمال تیمار استفاده شد.

تیمارهای یخ خشک و اتانول در دو ظرف پلاستیکی (از جنس پلی‌اتیلن با قطر ۳ میلی‌متر) و کیسه پلی‌اتیلنی (با قطر ۰/۰۵ میلی‌متر) اعمال شدند. در ابتدا هدف از آزمایش، اعمال مقادیر یکسانی از یخ خشک داخل هر دو کیسه پلی‌اتیلنی و ظرف پلاستیکی بود ولی از آنجایی که غلظت‌های استفاده شده در ظرف پلاستیکی منجر به تخریب کیسه پلی‌اتیلنی می‌گردید و غلظت‌های انتخاب شده در کیسه پلی‌اتیلنی در ظرف پلاستیکی موثر نشان نداد، از این رو غلظت‌های اعمال شده درون ظرف پلاستیکی و کیسه پلی‌اتیلنی بصورت مجزا و به شکل زیر انتخاب شد:

درون ظرف پلاستیکی: یخ خشک سه درصد، یخ خشک پنج درصد، یخ خشک هفت درصد (به ترتیب ۳۰، ۵۰ و ۷۰ گرم یخ خشک به ازای هر کیلوگرم میوه).

درون کیسه پلی‌اتیلنی: یخ خشک ۰/۱۶ درصد، یخ خشک ۰/۲۵ درصد و یخ خشک ۰/۳۳ درصد (به ترتیب ۱/۶، ۲/۵ و ۳/۳ گرم یخ خشک به ازای هر کیلوگرم میوه).

در هر دو ظرف پلاستیکی و کیسه پلی‌اتیلنی تیمار اتانول ۳۶٪ در مقدار ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم میوه به صورت محلول‌پاشی روی میوه‌ها اعمال و به سرعت درب آنها بسته شد. به‌عنوان شاهد میوه‌ها در ظرف پلاستیکی و کیسه پلی‌اتیلنی بدون اعمال تیمار قرار گرفتند.

پس از اعمال تیمارها، هر دو ظرف پلاستیکی و کیسه پلی‌اتیلنی بصورت کامل درزبندی شده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. پس از این مدت میوه‌ها از شرایط تیمارها خارج و در دمای اتاق و شرایط اتمسفر معمولی برای کامل شدن فرایند رفع گسی به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. در پایان فرایند رفع گسی خصوصیات شامل مقدار تانن محلول، درجه طعم گس میوه، سفتی بافت، مقدار مواد جامد محلول و مقدار اسید آسکوربیک (ویتامین ث) مورد بررسی قرار گرفتند.

برای اندازه‌گیری مقدار تانن محلول از روش فولین دنیز (Taira, 1996) استفاده شد. برای این منظور مقدار یک گرم از بافت میوه با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد بخوبی هم‌وزن شده و سپس در ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی جمع‌آوری و به هفت میلی‌لیتر آب مقطر مقدار یک میلی‌لیتر عصاره متانولی، یک میلی‌لیتر معرف فولین دنیز و یک میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در شرایط دمای معمولی نگهداری و میزان جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. غلظت تانن محلول از روی نمودار استاندارد اسید تانیک تهیه شده محاسبه و بر اساس میلی‌گرم بر کیلوگرم میوه بیان شد.

استالدئید می‌شود و در مرحله دوم تانن‌های محلول به دلیل قرابت بالا به استالدئید در اطراف آن تجمع یافته و تشکیل کمپلکس‌های سنگین وزن غیر محلول را می‌نمایند. در روش استفاده از اتانول، این ماده از طریق فعالیت آنزیم الکل دهیدروژناز تبدیل به استالدئید شده و استالدئید نیز با غیر محلول نمودن تانن‌های محلول منجر به از بین رفتن طعم گس میوه می‌گردد (Gazit and Adato, 1972, Pesis and Ben-Arie, 1986).

معمولاً پاسخ ارقام خرمالو به تیمارهای رفع گسی متفاوت می‌باشد و ارقام کمی شناخته شده است که توسط هر دو روش دی‌اکسیدکربن و اتانول رفع گس شود (Yamada et al., 2002). البته طی پژوهش‌های قبلی صورت گرفته نشان داده شده است که خرمالوی، رقم کرج به هر دو روش دی‌اکسیدکربن و اتانول به خوبی پاسخ مثبت نشان می‌دهد، منتهی روش استفاده از الکل اتیلیک برخلاف روش دی‌اکسیدکربن منجر به نرم شدن شدید میوه‌ها شده و چندان مناسب به نظر نمی‌رسد (Khademi, 2006, Khademi et al., 2008, Mostofi et al., 2008, Zamani et al., 2008). در میوه خرمالو معمولاً سفتی کمتر از یک کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع از نظر تجاری نامطلوب در نظر گرفته می‌شود (Arnal and Delrio, 2003).

روش اتمسفر اشباع از گاز دی‌اکسیدکربن برای حذف طعم گس میوه خرمالو با وجود کارایی بالا هزینه‌بر بوده و تجاری نمودن آن در شرایط ایران مشکل به نظر می‌رسد. ولی دی‌اکسیدکربن جامد با نام تجاری یخ خشک به وفور و با قیمت مناسب در ایران قابل دسترسی است. استفاده از یخ خشک برای حذف طعم گس میوه خرمالو توسط پژوهشگران دیگر گزارش شده است (Matsumoto et al., 2007, Oz et al., 2005) ولی اطلاعاتی در خصوص پاسخ ارقام خرمالوی ایرانی به این تیمار در دسترس نمی‌باشد. یخ خشک با گذشت زمان تبدیل به گاز دی‌اکسیدکربن شده و مکانیزم عمل آن در رفع گسی مشابه دی‌اکسیدکربن گازی شکل می‌باشد.

هدف از پژوهش حاضر بررسی کارایی تیمار یخ خشک در حذف طعم گس دو رقم خرمالوی رایج در منطقه کرج با نام‌های خرمالوی رقم کرج و خرمالوی رقم ژاپنی می‌باشد (Fatahi Moghadam et al., 2009).

مواد و روش‌ها

میوه دو رقم، خرمالوی کرج و خرمالوی ژاپنی از باغی واقع در اطراف شهر کرج در مرحله بلوغ تجاری (رنگ‌گیری کامل) برداشت شده و به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت دانشگاه شاهد منتقل شد. تعداد ۱۵ عدد میوه از هر رقم انتخاب و برای اندازه‌گیری خصوصیات در زمان برداشت (شامل؛ مقدار تانن محلول، سفتی بافت میوه، مقدار مواد جامد محلول و مقدار ویتامین ث) اختصاص یافت. سپس میوه‌های هر رقم به ۱۰ گروه (برای اعمال ۱۰ تیمار)، هر گروه

رنگ ارغوانی تیتتر شد. مقدار ویتامین ث بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر میوه بیان شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شده و تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۲) صورت گرفت. برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها نیز از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (*LSD*) در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. داده‌های هر یک از ارقام بصورت مجزا از یکدیگر تجزیه و تحلیل شد.

نتایج و بحث

نتایج رقم کرج

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار بر مقدار تانن محلول، درجه طعم گس، سفتی بافت و مقدار مواد جامد محلول میوه معنی‌دار ولی بر مقدار ویتامین ث غیر معنی‌دار بود (جدول ۱).

برای تعیین درجه طعم گس نمونه‌ها از آزمون پانل استفاده شد (مستوفی و همکاران، ۱۳۸۷). این آزمون توسط ۱۰ نفر صورت گرفته و درجه طعم گس در محدوده ۱ الی ۵ نمره دهی شد. ۱=غیر گس، ۲=گسی کم، ۳=گسی متوسط، ۴=گسی شدید، ۵=گسی خیلی شدید.

سفتی بافت میوه با استفاده از دستگاه سفتی سنج دستی (مدل: FTO11)، با قطر پیستون ۸ میلی‌متر و در دو قسمت استوایی میوه پس از جدا نمودن پوست میوه اندازه‌گیری و نتایج بر اساس کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع بیان شد. اندازه‌گیری مقدار مواد جامد محلول نیز، پس از عصاره‌گیری با دستگاه رفراکتومتر دستی (مدل: Atago Manual) صورت گرفت.

مقدار اسید آسکوربیک (ویتامین ث) با روش تیتراسیون با ۲ و ۶-دی کلروفنل ایندوفنل اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۱۰ گرم از بافت میوه با محلول اسید متاسفریک سه درصد عصاره‌گیری شده و عصاره بدست آمده توسط محلول رنگی دی‌کلروفنل ایندوفنل تا ثبات

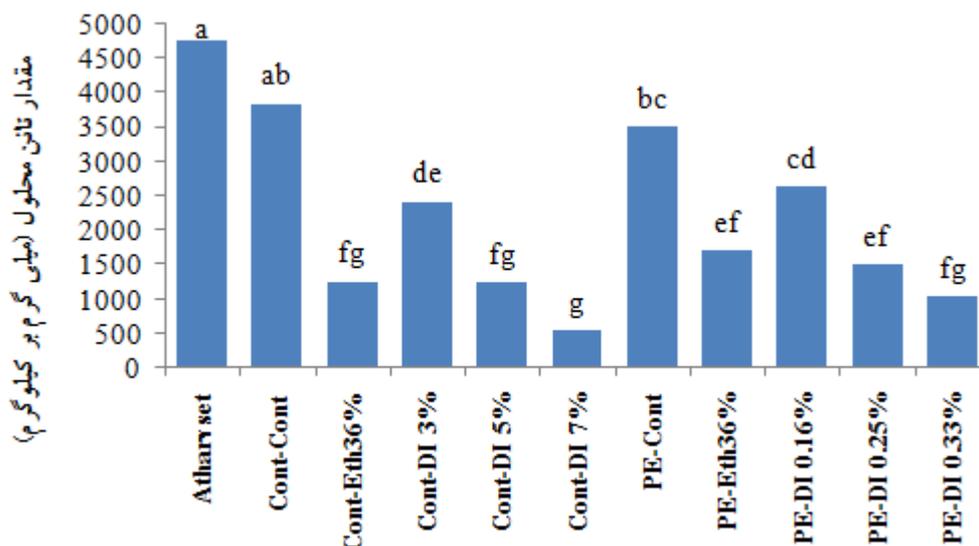
جدول ۱- تجزیه واریانس آزمایش رفع گسی میوه خرما رقم کرج با تیمارهای یخ خشک و اتانول

میانگین مربعات						
منبع تغییرات	درجه آزادی	تانن محلول	درجه گسی	سفتی بافت	مواد جامد محلول	ویتامین ث
تیمار	۱۰	۵۳۲۲۳۲۸**	۵/۵**	۱۸/۰۷**	۴/۵۷**	۳۰/۷۵ ^{ns}
خطای آزمایش	۲۲	۲۹۶۵۳۵	۰/۱۵	۰/۹۸	۱/۷	۳۴
ضریب تغییرات	۲۱	۲۴	۱۴	۲۱	۹	۲۶
ns = غیر معنی‌دار ** = معنی‌دار در سطح پنج درصد *** = معنی‌دار در سطح یک درصد						

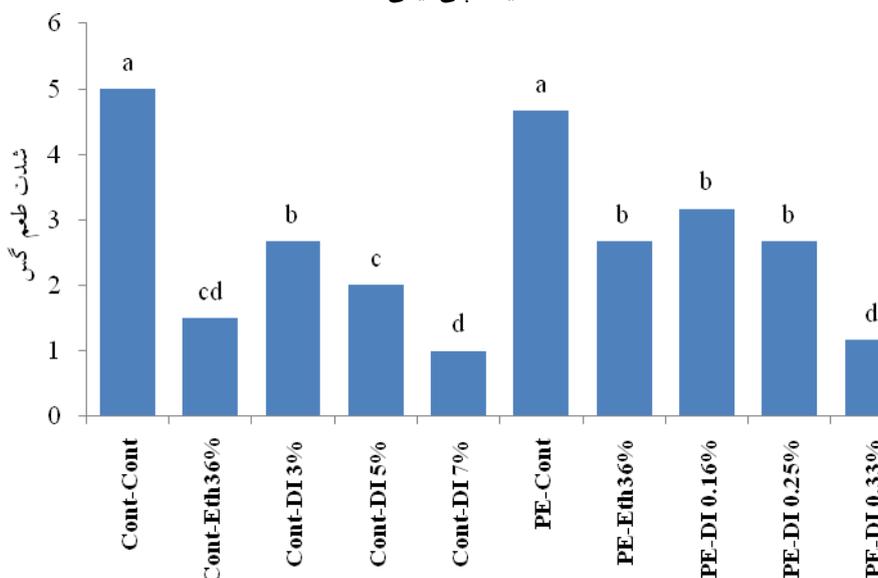
محدوده طعم گس قرار داشتند (شکل ۱). البته در بین سایر تیمارها، تیمارهای اتانول درون ظرف پلاستیکی، یخ خشک پنج درصد درون ظرف پلاستیکی و یخ خشک ۰/۳۳ درصد درون کیسه پلی‌اتیلنی دارای مقدار تانن محلول کمی بیش از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بودند. این نتایج بطور تقریبی با نتایج بدست آمده از آزمون پانل مطابقت داشت. بطوری که از نظر آزمون کنندگان کمترین شدت طعم گس در تیمارهای یخ خشک هفت درصد درون ظرف پلاستیکی و یخ خشک ۰/۳۳ درصد درون کیسه پلی‌اتیلنی مشاهده شد که البته با تیمار اتانول درون ظرف پلاستیکی اختلافی از نظر شدت طعم گس نشان نداد. تیمار یخ خشک پنج درصد درون ظرف پلاستیکی نیز دارای طعم گس کمتری از تیمارهای دیگر آزمایش بود. بر طبق آزمون پانل بیشترین شدت طعم گس در تیمارهای شاهد آزمایش مشاهده شد (شکل ۲).

مقدار تانن محلول و درجه طعم گس میوه

در زمان برداشت مقدار تانن محلول نمونه‌ها بالاتر از ۴۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در محدوده طعم گس (بالاتر از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قرار داشتند. اعمال تیمارهای اتانول و یخ خشک در هر دوی ظرف پلاستیکی و کیسه‌های پلی‌اتیلنی به طور معنی‌داری منجر به کاهش غلظت تانن میوه خرما لوی رقم کرج در مقایسه با زمان برداشت شد، در حالی که در تیمارهای شاهد (شاهد درون کیسه پلی‌اتیلنی و شاهد درون ظرف پلاستیکی) غلظت تانن محلول کاهش کمتری نشان داد. ولی بر اساس غلظت بحرانی تانن محلول در ایجاد طعم گس در بین تمامی تیمارهای اعمال شده تنها تیمار یخ خشک هفت درصد درون ظرف پلاستیکی دارای غلظت کمتر از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و غیر گس بوده در حالی که در سایر تیمارها با وجود کاهش شدید غلظت تانن محلول میوه‌ها در



شکل ۱- اثر تیمارهای یخ خشک و اتانول بر مقدار تانن محلول خرمالوی رقم کرج، میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ آزمون *LSD* نمی‌باشند. مخفف‌ها عبارتند از: Atharvest=زمان برداشت، Cont-Cont=شاهد - ظرف پلاستیکی، Cont-Eth36%= اتانول ۳۶٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 3%= یخ خشک ۳٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 5%= یخ خشک ۵٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 7%= یخ خشک ۷٪ - ظرف پلاستیکی، PE-Cont=شاهد - کیسه پلی اتیلنی، PE-Eth36%= اتانول ۳۶٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.16%= یخ خشک ۰/۱۶٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.25%= یخ خشک ۰/۲۵٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.33%= یخ خشک ۰/۳۳٪ - کیسه پلی اتیلنی.

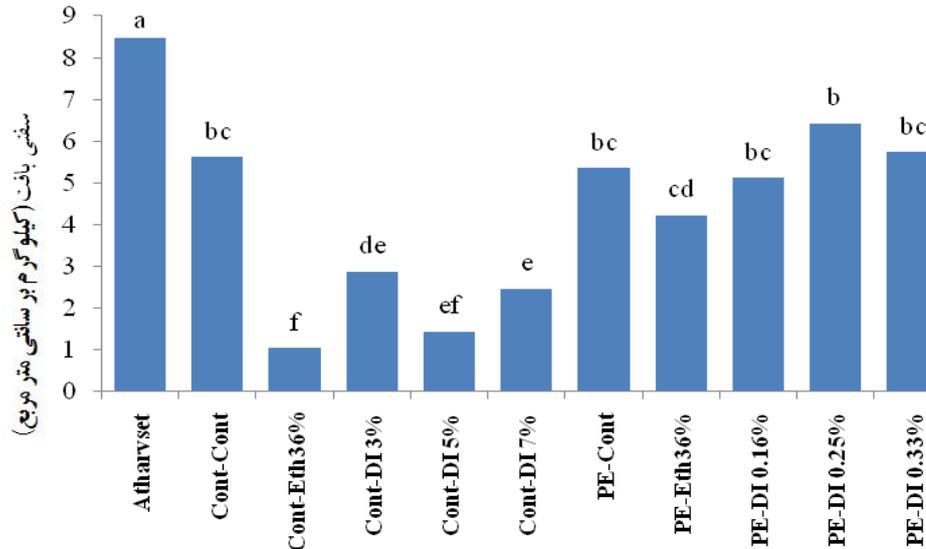


شکل ۲- اثر تیمارهای یخ خشک و اتانول بر شدت طعم گس خرمالوی رقم کرج، میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ آزمون *LSD* نمی‌باشند. مخفف‌ها عبارتند از: Atharvest=زمان برداشت، Cont-Cont=شاهد - ظرف پلاستیکی، Cont-Eth36%= اتانول ۳۶٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 3%= یخ خشک ۳٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 5%= یخ خشک ۵٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 7%= یخ خشک ۷٪ - ظرف پلاستیکی، PE-Cont=شاهد - کیسه پلی اتیلنی، PE-Eth36%= اتانول ۳۶٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.16%= یخ خشک ۰/۱۶٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.25%= یخ خشک ۰/۲۵٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.33%= یخ خشک ۰/۳۳٪ - کیسه پلی اتیلنی.

سفتی بافت

اتانول اعمال شده درون ظرف پلاستیکی مشاهده شد که البته با تیمار یخ خشک پنج درصد اعمال شده درون ظرف پلاستیکی تفاوت معنی-داری نشان نداد. منتهی میوه‌های هر سه تیمار یخ خشک اعمال شده دارای سفتی بالای یک کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع بودند. در استفاده از کیسه پلاستیکی تفاوت چندان قابل ملاحظه‌ای بین شاهد و تیمارهای یخ خشک و اتانول از نظر سفتی بافت مشاهده نشده و تمامی نمونه‌ها دارای سفتی مناسبی بودند (شکل ۳).

میوه‌ها در زمان برداشت دارای سفتی ۸/۵ کیلوگرم بر سانتی-مترمربع بودند ولی با اعمال تمامی تیمارها سفتی بافت بطور معنی-داری در مقایسه با زمان برداشت کاهش یافت. در حالت کلی تیمارهای اعمال شده درون ظرف پلاستیکی دارای سفتی بافت کمتری از تیمارهای اعمال شده درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی بودند. در تیمار درون ظرف پلاستیکی تیمارهای یخ خشک و اتانول در مقایسه با شاهد دارای سفتی بافت کمتری بودند. کمترین سفتی نیز در تیمار

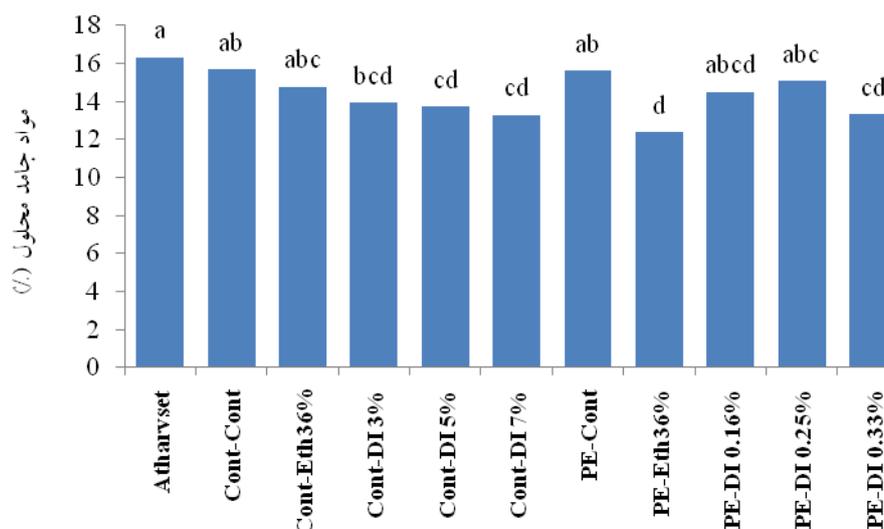


شکل ۳- اثر تیمارهای یخ خشک و اتانول بر سفتی بافت خرمالوی رقم کرج، میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ آزمون *LSD* نمی‌باشند. مخفف‌ها عبارتند از: Atharvest=زمان برداشت، Cont-Cont=شاهد - ظرف پلاستیکی، Cont-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 3%=یخ خشک ۳٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 5%=یخ خشک ۵٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 7%=یخ خشک ۷٪ - ظرف پلاستیکی، PE-Cont=شاهد - کیسه پلی‌اتیلنی، PE-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - کیسه پلی‌اتیلنی، PE-DI 0.16%=یخ خشک ۰/۱۶٪ - کیسه پلی‌اتیلنی، PE-DI 0.25%=یخ خشک ۰/۲۵٪ - کیسه پلی‌اتیلنی، PE-DI 0.33%=یخ خشک ۰/۳۳٪ - کیسه پلی‌اتیلنی.

نشد. در اعمال تیمار درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی نیز اختلاف معنی-داری بین میوه‌های تیمارهای یخ خشک ۰/۱۶ درصد و ۰/۲۵ درصد با شاهد از نظر مقدار مواد جامد محلول مشاهده نشد ولی میوه‌های تیمارهای یخ خشک ۰/۳۳ درصد و اتانول دارای مقدار مواد جامد محلول کمتری در مقایسه با میوه‌های شاهد بودند. تیمارهای اعمال شده بر مقدار اسید آسکوربیک احیا شده (ویتامین ث) خرمالوی رقم کرج تاثیر معنی‌داری نشان ندادند.

مقدار مواد جامد محلول

همانگونه که در شکل ۴ مشاهده می‌شود تفاوت معنی‌داری بین مقدار مواد جامد محلول تیمارهای شاهد و مقدار مواد جامد محلول زمان برداشت مشاهده نشد. در اعمال تیمار درون ظروف پلاستیکی، میوه‌های تیمارهای یخ خشک پنج و هفت درصد بطور معنی‌داری دارای مقدار مواد جامد محلول کمتری از میوه‌های شاهد بودند در حالی که تفاوت معنی‌داری بین میوه‌های تیمارهای اتانول و یخ خشک سه درصد با شاهد از نظر مقدار مواد جامد محلول مشاهده



شکل ۴- اثر تیمارهای یخ خشک و اتانول بر مقدار مواد جامد محلول خرمالوی رقم کرج، میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD نمی‌باشند. مخفف‌ها عبارتند از: Atharvset=زمان برداشت، Cont-Cont=شاهد - ظرف پلاستیکی، Cont-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 3%=یخ خشک ۳٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 5%=یخ خشک ۵٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 7%=یخ خشک ۷٪ - ظرف پلاستیکی، PE-Cont=شاهد - کیسه پلی اتیلنی، PE-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.16%=یخ خشک ۱۶٪/۰ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.25%=یخ خشک ۲۵٪/۰ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.33%=یخ خشک ۳۳٪/۰ - کیسه پلی اتیلنی.

درجه طعم گس، سفتی بافت، مقدار مواد جامد محلول معنی‌دار ولی بر مقدار ویتامین ث غیر معنی‌دار بود (جدول ۲).

نتایج رقم ژاپنی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار بر مقدار تانن محلول،

جدول ۲- تجزیه واریانس آزمایش رفع گسی میوه خرمالو رقم ژاپنی با تیمارهای یخ خشک و اتانول

میانگین مربعات						
منبع تغییرات	درجه آزادی	تانن محلول	درجه گسی	سفتی بافت	مواد جامد محلول	ویتامین ث
تیمار	۱۰	۴۸۶۶۳۵۷**	۴/۶۲**	۸/۰۷**	۷/۱۶**	۷/۷۳ ^{ns}
خطای آزمایش	۲۲	۴۳۷۷۴۴	-/۲۵	۱/۰۸	۱/۱۳	۵/۶۱
ضریب تغییرات	۲۱	۲۱	۱۸	۱۶	۶	۲۲

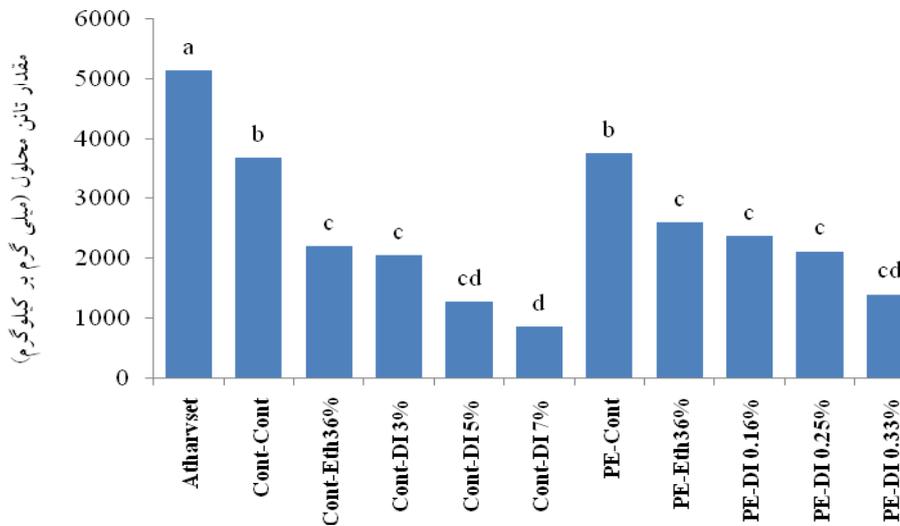
ns = غیر معنی‌دار *** = معنی‌دار در سطح پنج درصد *** = معنی‌دار در سطح یک درصد

۰/۳۳ درصد درون کیسه پلی اتیلنی نیز دارای غلظت تانن محلول کمتر از ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و نزدیک به غیر گس بودند. تیمار اتانول در هر دو ظرف پلاستیکی و کیسه پلی اتیلنی در غیر گس نمودن میوه‌های رقم ژاپنی موثر نشان نداد (شکل ۵). نتایج آزمون پانل نیز بطور نسبی تاییدکننده نتایج فوق بود. بطوری که از نظر آزمون کنندگان بیشترین درجه طعم گس در نمونه‌های شاهد بوده و کمترین درجه گسی نیز در نمونه‌های تیمار یخ خشک هفت درصد درون ظرف پلاستیکی مشاهده شد (شکل ۶). تیمارهای یخ خشک پنج درصد درون ظرف پلاستیکی و یخ خشک ۰/۳۳ درصد درون کیسه پلی اتیلنی نیز از درجه طعم گس کمتری در مقایسه با سایر

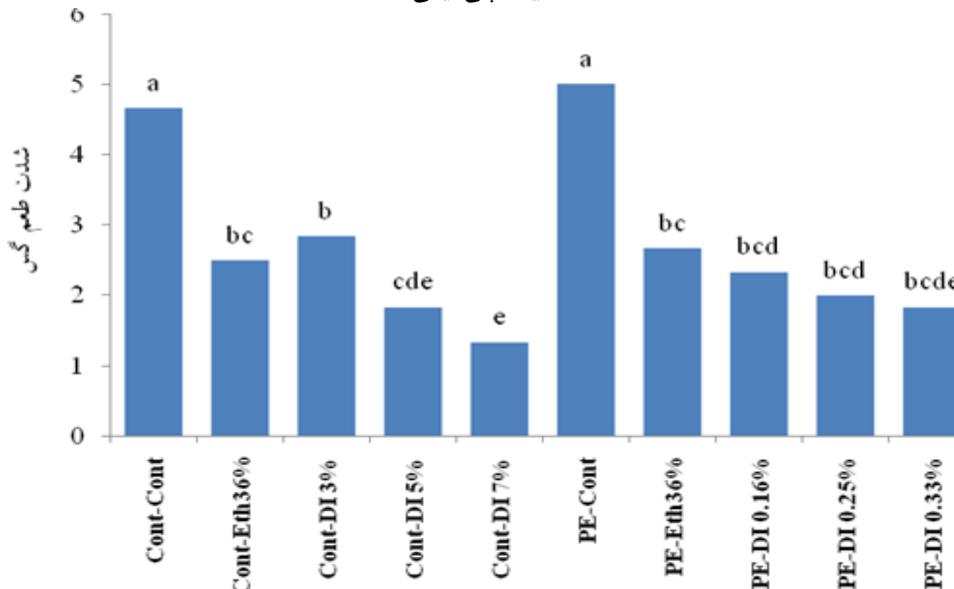
مقدار تانن محلول و درجه طعم گس میوه

بررسی مقدار تانن محلول در رقم ژاپنی نشان داد که بین تیمارهای شاهد و زمان برداشت اختلاف معنی‌داری از نظر غلظت تانن محلول مشاهده نشد. کاهش در غلظت تانن محلول در اثر تیمارهای یخ خشک و اتانول در هر دوی کیسه‌های پلی اتیلنی و ظرف پلاستیکی بیشتر از شاهد‌ها بود. منتهی بر اساس غلظت بحرانی تانن محلول در ایجاد طعم گس تنها تیمار یخ خشک هفت درصد درون ظرف پلاستیکی منجر به غیر گس شدن میوه‌ها شده است. تیمارهای یخ خشک پنج درصد درون ظرف پلاستیکی و یخ خشک

تیمارها برخوردار بودند.



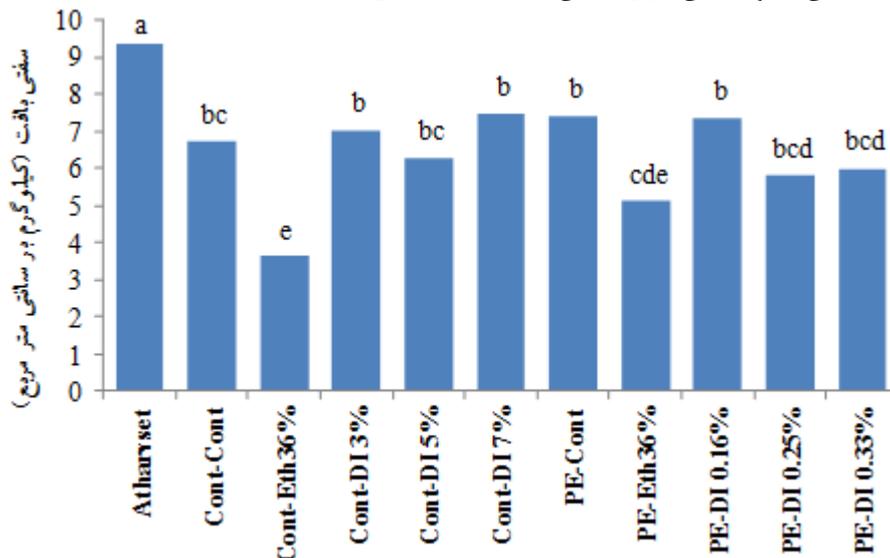
شکل ۵- اثر تیمارهای یخ خشک و اتانول بر مقدار تانن محلول خرمالوی رقم ژاپنی، میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD نمی‌باشند. مخفف‌ها عبارتند از: Atharvest=زمان برداشت، Cont-Cont=شاهد - ظرف پلاستیکی، Cont-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 3%=یخ خشک ۳٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 5%=یخ خشک ۵٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 7%=یخ خشک ۷٪ - ظرف پلاستیکی، PE-Cont=شاهد - کیسه پلی اتیلنی، PE-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.16%=یخ خشک ۰.۱۶٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.25%=یخ خشک ۰.۲۵٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.33%=یخ خشک ۰.۳۳٪ - کیسه پلی اتیلنی.



شکل ۶- اثر تیمارهای یخ خشک و اتانول بر شدت طعم گس خرمالوی رقم ژاپنی، میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD نمی‌باشند. مخفف‌ها عبارتند از: Atharvest=زمان برداشت، Cont-Cont=شاهد - ظرف پلاستیکی، Cont-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 3%=یخ خشک ۳٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 5%=یخ خشک ۵٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 7%=یخ خشک ۷٪ - ظرف پلاستیکی، PE-Cont=شاهد - کیسه پلی اتیلنی، PE-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.16%=یخ خشک ۰.۱۶٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.25%=یخ خشک ۰.۲۵٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.33%=یخ خشک ۰.۳۳٪ - کیسه پلی اتیلنی.

سفتی بافت

بیشتری در مقایسه با میوه‌های تیمار شده درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی بودند. در هر دوی ظرف پلاستیکی و کیسه پلی‌اتیلنی، میوه‌های تیمار اتانول دارای سفتی بافت کمتری در مقایسه با شاهد بود ولی بین نمونه‌های تیمارهای یخ خشک و شاهد اختلاف معنی‌داری از نظر سفتی مشاهده نشد (شکل ۷).



خرمالوی رقم ژاپنی در زمان برداشت دارای سفتی بافت بیش از ۹ کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع بود. اعمال تمامی تیمارها منجر به کاهش معنی‌دار سفتی میوه در مقایسه با زمان برداشت شد. میوه‌های تیمار شده درون ظرف پلاستیکی بطور نسبی دارای سفتی بافت

شکل ۷- اثر تیمارهای یخ خشک و اتانول بر سفتی بافت خرمالوی رقم ژاپنی، میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ آزمون *LSD* نمی‌باشند. مخفف‌ها عبارتند از: Atharvest=زمان برداشت، Cont-Cont=شاهد - ظرف پلاستیکی، Cont-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 3%=یخ خشک ۳٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 5%=یخ خشک ۵٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 7%=یخ خشک ۷٪ - ظرف پلاستیکی، PE-Cont=شاهد - کیسه پلی‌اتیلنی، PE-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - کیسه پلی‌اتیلنی، PE-DI 0.16%=یخ خشک ۱۶٪ - کیسه پلی‌اتیلنی، PE-DI 0.25%=یخ خشک ۲۵٪ - کیسه پلی‌اتیلنی، PE-DI 0.33%=یخ خشک ۳۳٪ - کیسه پلی‌اتیلنی.

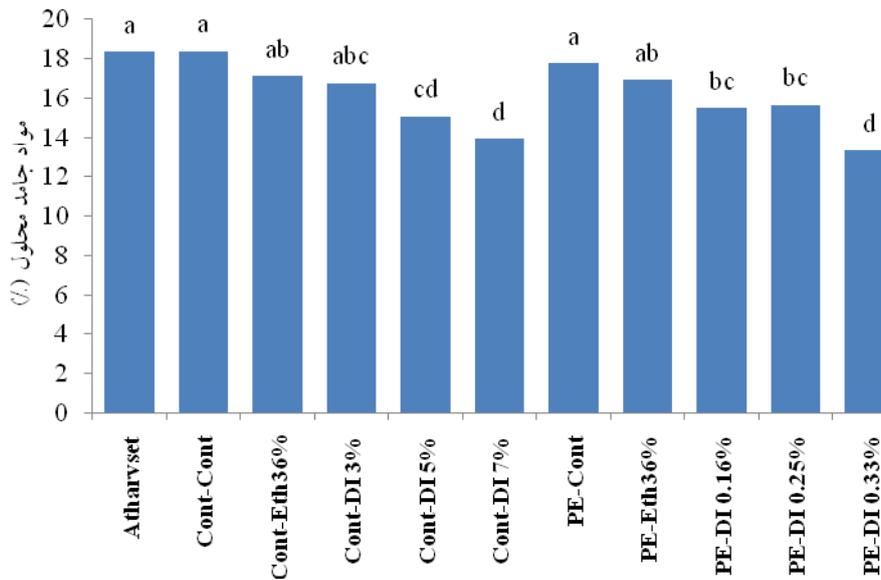
مقدار مواد جامد محلول

نتایج حاصل از بررسی مقدار مواد جامد محلول نشان داد که نگهداری خرمالوی رقم ژاپنی درون ظرف پلاستیکی و کیسه پلی‌اتیلنی در شرایط شاهد تاثیر معنی‌داری در مقدار مواد جامد محلول در مقایسه با زمان برداشت نداشت. ولی اعمال تیمارهای رفع گسی منجر به کاهش مقدار مواد جامد محلول در مقایسه با مقدار آن در زمان برداشت شد. در اعمال تیمار درون ظرف پلاستیکی، نمونه‌های تیمارهای یخ خشک پنج و هفت درصد دارای مقدار مواد جامد محلول کمتری در مقایسه با نمونه‌های شاهد بودند ولی بین نمونه‌های تیمارهای اتانول و یخ خشک سه درصد با شاهد اختلاف معنی‌داری از نظر مقدار مواد جامد محلول مشاهده نشد. در اعمال تیمار در کیسه پلی‌اتیلنی میوه‌های تیمارهای یخ خشک دارای مقدار مواد جامد محلول کمتری در مقایسه با شاهد آزمایش بودند ولی بین تیمارهای اتانول و شاهد اختلاف معنی‌داری در مقدار مواد جامد محلول مشاهده نشد (شکل ۸).

ت) خرمالوی رقم ژاپنی تاثیر معنی‌داری نشان ندادند. بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش، در هر دو خرمالوی رقم کرج و رقم ژاپنی، تیمارهای یخ خشک به خصوص در غلظت‌های بالا بطور موثری منجر به کاهش غلظت تانن محلول در مقایسه با زمان برداشت شدند در حالی که در تیمارهای شاهد چنین کاهش مشاهده نشد. منتهی بر اساس غلظت بحرانی تانن محلول در ایجاد طعم گس (Taira, 1996) تنها تیمار یخ خشک هفت درصد درون ظرف پلاستیکی تیماری موثر در غیر گس نمودن هر دو رقم بود. این نتایج با نتایج بدست آمده روی ارقام سایجو (Matsumoto *et al.*, 2007) و مورالی (Oz *et al.*, 2005) منطبق بود که نشان داده شده بود تیمار دی‌اکسیدکربن جامد بطور موثری منجر به غیرگس شدن این ارقام می‌گردد. البته در برخی از تیمارها همانند یخ خشک پنج درصد درون ظرف پلاستیکی، یا یخ خشک ۳۳٪ درون کیسه پلی‌اتیلنی در هر دو رقم ژاپنی و کرج و یا تیمار اتانول روی رقم کرج غلظت تانن محلول چندان از غلظت بحرانی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بالاتر نبود و بنظر می‌رسد نگهداری بیشتر در شرایط تیمار یا

تیمارهای اعمال شده بر مقدار اسیدآسکوربیک احیاشده (ویتامین

بر چندین رقم تجاری چین و ژاپن بررسی و نشان داده شده است که تیمار دی‌اکسیدکربن موثرتر از تیمار اتانول در رفع گسی خرمالو بوده و ارقام معدودی به تیمار اتانول پاسخ مثبت نشان می‌دهند (Yamada *et al.*, 2002). بنابراین بر اساس نتایج پژوهش حاضر بنظر می‌رسد رقم ژاپنی مستعد به رفع گسی توسط تیمار اتانول نمی‌باشد. ولی غلظت تانن محلول در رقم کرج بخوبی توسط تیمار اتانول کاهش یافت. مشابه با نتایج حاضر در پژوهش‌های قبلی نیز نشان داده شده بود که رقم کرج به هر دو تیمار دی‌اکسیدکربن و اتانول پاسخ مثبت نشان می‌دهد (Khademi, 2006, Khademi *et al.*, 2008, Mostofi *et al.*, 2008, Zamani *et al.*, 2008).



پس از آن در شرایط اتمسفر معمولی با غیرگس شدن میوه‌ها همراه خواهد بود. چرا که با گذشت زمان پکتین‌های بیشتری از دیواره سلولی آزاد شده و تانن محلول را بصورت غیرمحلول تبدیل می‌نمایند (Taira and Ono, 1997, Taira *et al.*, 1997). در این آزمایش پس از تیمار، میوه‌ها تنها ۲۴ ساعت در شرایط معمولی نگهداری شدند در حالی که در شرایط تجاری از زمان اعمال تیمار تا زمان مصرف میوه‌ها مدت زمان بیشتری در شرایط اتمسفر معمولی نگهداری می‌شوند.

بر اساس نتایج تیمار اتانول در کاهش غلظت تانن محلول رقم ژاپنی چندان موثر نشان نداد. طی پژوهشی اثر تیمارهای رفع گسی

شکل ۸- اثر تیمارهای یخ خشک و اتانول بر مقدار مواد جامد محلول خرمالوی رقم ژاپنی، میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD نمی‌باشند. مخفف‌ها عبارتند از: Atharset=زمان برداشت، Cont-Cont=شاهد - ظرف پلاستیکی، Cont-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 3%=یخ خشک ۳٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 5%=یخ خشک ۵٪ - ظرف پلاستیکی، Cont-DI 7%=یخ خشک ۷٪ - ظرف پلاستیکی، PE-Cont=شاهد - کیسه پلی اتیلنی، PE-Eth36%=اتانول ۳۶٪ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.16%=یخ خشک ۱۶٪/۰ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.25%=یخ خشک ۲۵٪/۰ - کیسه پلی اتیلنی، PE-DI 0.33%=یخ خشک ۳۳٪/۰ - کیسه پلی اتیلنی.

که مکانیزم نرم شدن در میوه خرمالو نیز تحت کنترل اتیلن است بنابراین تیمار دی‌اکسیدکربن با نرم شدن میوه همراه خواهد بود (Nakano and Kubo, 2003, Nakano *et al.*, 2001). تیمار اتانول هم بطور مستقیم و هم با تحریک تولید اتیلن عامل بیان ژن-های آنزیم‌های تخریب کننده دیواره سلولی بوده و با نرم شدن میوه همراه است (Pesis, 2005). نتایج این پژوهش مطابق با نتایج پژوهش‌های قبلی روی ارقام ایرانی است که در آنها گزارش شده است تیمار اتانول منجر به نرم شدن بیشتر میوه خرمالو در مقایسه با تیمار دی‌اکسیدکربن می‌شود (Khademi, 2006, Khademi *et al.*, 2008, Zamani *et al.*, 2008).

نتایج آزمایش نشان داد که کاهش مقدار مواد جامد محلول در اثر

سفتی بافت در میوه خرمالو از نظر بازاریابی و حفظ کیفیت پس از برداشت اهمیت فراوانی دارد. خرمالوهای دارای سفتی کمتر از یک کیلوگرم بر سانتی مترمربع از نظر بازاریابی و حمل‌ونقل دچار نارسایی می‌گردند (Arnal and Delrio, 2003). بر اساس نتایج این پژوهش اعمال تیمارهای اتانول و یخ خشک در هر دو رقم مورد مطالعه با کاهش سفتی همراه بود. منتهی این کاهش در خرمالوی رقم کرج مشهودتر بود. هر چند سفتی بافت در تیمارهای موثر در رقم کرج نیز بالاتر از یک کیلوگرم بر سانتی مترمربع و مورد پذیرش بود. کاهش سفتی در اثر تیمار رفع گسی به تحریک تولید اتیلن در شرایط این تیمار نسبت داده می‌شود. دی‌اکسیدکربن بالا به‌عنوان شرایط تنش عمل نموده و با تحریک سیستم دو اتیلن همراه می‌باشد، از آنجایی

آنتی‌اکسیدانی و ارزش غذایی میوه خرمالو نشان نمی‌دهند. در نتیجه بر اساس نتایج این آزمایش تیمار دی‌اکسیدکربن جامد یا یخ خشک تیماری موثر در رفع گسی خرمالوهای تولید شده در منطقه کرج بوده و با توجه به حفظ مناسب سفتی بافت می‌تواند در افزایش کیفیت خوراکی و بالا بردن ارزش تجاری این میوه موثر واقع شود. استفاده از این تیمار برخلاف تیمار گاز دی‌اکسیدکربن نیاز به تجهیزات ویژه‌ای نداشته و به راحتی قابلیت تجاری شدن در کشور را دارد. بر اساس نوع ظرف استفاده شده مقدار یخ خشک استفاده شده متفاوت خواهد بود ولی استفاده از ظرف پلاستیکی به دلیل ضخامت بیشتر و نفوذپذیری کمتر به دی‌اکسیدکربن موثرتر از کیسه پلی‌اتیلنی می‌باشد.

تیمارهای رفع گسی در هر دو رقم وجود داشت. کاهش مقدار مواد جامد محلول در اثر تیمارهای رفع گسی به دلیل کاهش غلظت تانن محلول به‌عنوان عامل مداخله‌کننده در اندازه‌گیری درصد مواد جامد محلول بوده و ناشی از کاهش مقدار قند میوه نیست (Arnal and Delrio, 2003). در پژوهشی مشابه نشان داده شده است که تیمارهای رفع گسی اتانول و دی‌اکسیدکربن تاثیر معنی‌داری بر مقدار قند محلول میوه خرمالو ندارد (خادمی، ۱۳۸۵). همچنین نتایج آزمایش حاضر مشابه با نتایج گزارش قبلی روی ارقام ایرانی (خادمی، ۱۳۸۵) نشان داد که تیمارهای رفع گسی تاثیر معنی‌داری بر مقدار اسید آسکوربیک در هر دو رقم کرج و ژاپنی ندارند. بنابراین تیمارهای رفع گسی به عنوان عامل تنش وارد شده به میوه تاثیر منفی روی ظرفیت

منابع

- Arnal, L. & Delrio, M.A., 2003, Removing astringency by carbon dioxide and nitrogen-enriched atmospheres in persimmon fruit cv. Rojo Brillante, *Food Science*, 68, 1516-1518.
- Chung, H.S., Kim, H.S., Lee, Y.G. & Seong, J.H., 2014, Effect of deastringency treatment of intact persimmon fruits on the quality of fresh-cut persimmons, *Food Chemistry*, 166, 192-197.
- Cia, P., De Silva, E.A.B.R., Sigrist, J.M.M., Sarantopoulos, C.I.G.L., De Oliveira, L.M. & Padula, M., 2002, Effect of modified-atmosphere packaging on the quality of Fuyu persimmon, *Brazilian Journal of Food Technology*, 6, 109-118.
- Fatahi Moghadam, M. R., Talebbeidokhti, Z. & Zamani, Z., 2009, Characterization of some persimmon genotypes using morphological characters and RAPD markers, *Iranian Journal of Horticultural Science*, 40, 61-71.
- Gazit, S. & Adato, I. 1972, Effect of carbon dioxide atmosphere on the course of astringency disappearance of persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruits, *Food Science*, 37, 815-817.
- Ito, S., 1971, The persimmon. In: Hulme, A.C. (ed.), *The Biochemistry of Fruits and Their Products*, Academic, New York. Vol. 2, 281-301.
- Khademi, O., Mostofi, Y., Zamani, Z., & Fatahi, R., 2010, The effect of deastringency treatments on increasing the marketability of persimmon fruit, *Acta Horticulture*, 877, 687-691.
- Khademi, O., 2006, Study on the effect of CO₂ and ethanol treatments on the astringency removal and quality characteristics in Japanese persimmon. MSc thesis, University of Tehran.
- Kato, K., 1999, Astringency removal and ripening in persimmons treated with ethanol and ethylene, *HortScience*, 25, 205-207.
- Khademi, O., Mostofi, Y., Zamani, Z. & Fatahi Moghadam, M. R., 2008, Effects of postharvest ethanol application on astringency removal and fruit quality of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.), *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 12, 19-27.
- Luo, Z., 2006, Extending shelf-life of persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit by hot air treatment, *European Food Research Technology*, 222, 149-154.
- Matsuo, T. & Ito, S., 1978, The chemical structure of kaki-tannin from immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki* L.), *Agricultural and Biological Chemistry*, 42, 1637-1643.
- Matsumoto, T., Matsuzaki, H., Takata, K., Tsurunaga, Y., Takahashi, H. & Kurahashi, T., 2007, Inhibition of astringency removal in semidried Japanese persimmon fruit by 1-methylcyclopropene treatment, *HortScience*, 42, 1493-1495.
- Mostofi, Y., Zamani, Z., Fatahi Moghadam, M. R. & Khademi, O., 2008, Measurement of soluble tannins and evaluation of consumer acceptance of persimmon fruit cv. Karaj after deastringency treatments, *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 5, 79-89.
- Nakano, R. & Kubo, Y., 2003, Involvement of stress-induced ethylene biosynthesis in fruit softening of Saijo persimmon fruit, *Acta Horticulture*, 601, 219-226.
- Nakano, R., Harima, S., Ogura, E., Inoue, S., Kubo, Y. & Inaba, A., 2001, Involvement of stress-induced ethylene biosynthesis in fruit softening of 'Saijo' persimmon, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 70, 581-585.
- Öz, A.T., Özelkök, I.S. & Albayrak, B., 2005, Sugar and tannin content changes in persimmon fruit during artificial ripening with dry ice, *Acta Horticulture*, 682, 987-992
- Pesis, E., 2005, The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit

- quality and fruit deterioration, *Postharvest Biology and Technology*, 37, 1-19.
- Pesis, E. & Ben-Arie, R., 1986, Carbon dioxide assimilation during postharvest removal of astringency from persimmon fruit, *Physiologia Plantarum*, 67, 644-648.
- Taira, S., 1996, Astringency in persimmon. In: Linskens, H.F., Jackson, J.F. (Eds.), *Modern Method of Plant Analysis, fruit analysis*, Springer-Verlag, Berlin, 18, 97-110.
- Taira, S., & Ono, M., 1997, Reduction of astringency in persimmon caused by adhesion of tannin to cell wall fragments, *Acta Horticulture*, 436, 235-241.
- Taira, S., Ono, M. & Matsumoto, N., 1997, Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannin, *Postharvest Biology and Technology*, 12, 265-271.
- Yamada, M., Taira, S., Ohtsuki, M., Sato, A., Iwanami, H., Yakushiji, H., Wang, R., Yang, Y. & Li, G., 2002, Varietal difference in the ease of astringency removal by carbon dioxide gas and ethanol vapor treatments among oriental astringent persimmon of Japanese and Chinese origin, *Scientia Horticulturae*, 94, 63-72.
- Zamani, Z., Mostofi, Y., Fatahi Moghadam, M.R. & Khademi O., 2008, Astringency removal of Japanese persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.) by CO₂ enriched atmosphere and its effects on some important fruit characteristics, *Journal of Agricultural Science and Natural Resources*, 15, 68-76.

Using of dry ice for astringency removal in persimmon fruit

O. Khademi^{1*} and Y. Nemati Mirak²

Received: 2014.11.05

Accepted: 2015.03.12

Introduction: There are two types of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.), astringent and non-astringent, based on the degree of astringent taste at maturity state. Fruits of either type are strongly astringent when small and immature, but non-astringent type loses its astringency during development on the tree, still with firm flesh. However, the astringent type keeps its astringency and is inedible even when fully colored. It loses its astringency when becomes over-ripe with extremely soft flesh. At this stage, the fruits are usually over ripe with poor quality. Astringency in persimmon is caused by soluble tannins present in the fruit flesh. One mechanism useful in artificial removal of astringency from persimmon fruit is condensation or polymerization of soluble tannins into insoluble non-astringent forms, by acetaldehyde, which is being produced in the fruit flesh during different treatments. Acetaldehyde accumulates in the fruit flesh during its exposure to ethanol vapor or high level of carbon dioxide (CO₂) gas. Hence, constant temperature and short duration (CTSD) is the preferred method of CO₂ treatment used to remove astringency of persimmon fruit. It involves holding the fruits in ≥95% carbon dioxide atmosphere for a short duration at constant temperature of 20-30°C then transferring to normal atmosphere. However using CO₂ treatment as gas form is expensive and needs special equipment. However, solid CO₂ (dry ice) is easily available in Iran with low price. It release CO₂ gas and can be used for removing astringency in persimmon fruit. The response of persimmon to de-astringent treatment depends on the cultivar. In this study two persimmon cultivars namely: "Karaj" and "Japanese" were harvested at maturity (full coloring) stage and treated with dry ice and ethanol vapor to remove astringency and the quality of treated fruits were evaluated.

Materials and methods: Astringent persimmon fruits cvs 'Karaj' and 'Japanese' were harvested at maturity stage and transported immediately to the Department of Horticulture Science, University of Shahed and treated with either ethanol or dry ice. Both ethanol and dry ice treatment treatments were applied in low-density polyethylene bags with 0.05 mm thickness and polyethylene container with 3 mm thickness. In the polyethylene container, dry ice was applied at amounts of 3, 5 and 7% per kilograms of fruit and in the polyethylene bags dry ice was applied at amount of 0.16, 0.25 and 0.33 per kilogerams of fruits. For ethanol treatment, in both polyethylene bag and polyethylene container, 10 ml of 36% ethanol per kilogram of fruit was sprayed. Thereafter, bags and containers were sealed completely and kept for 48 hours at 25°C and 80% RH. After removing from the closed bags and containers, fruits were held in air at 25°C, 80% RH for completing astringency removing. After astringency removal treatment treatments, soluble tannin contents, astringent taste degree, fruit firmness, total soluble solid and ascorbic acid content were measured. The content of soluble tannin was determined by Folin-Denis method and the degree of astringency was determined by panel test. The experiments were conducted in a completely randomized design (CRD) and analysis of variance (ANOVA) was performed and the means were compared using LSD Test.

Results and discussion: After performing the astringency removal treatment, fruits containing less than 1000 ppm of soluble tannin on a fresh weight basis showed no astringency. Results presented here showed that, dry ice treatment, especially at higher concentrations such as 7% in both cultivars, causes removal of astringency and decreases soluble tannin contents below the threshold of 1000 ppm, but ethanol treatment was effective only in Karaj persimmon for the removal of astringency. Similarly, it was indicated that CO₂ treatment removed the astringency more easily in some Chinese cultivars than the ethanol treatment. The response of persimmon cv. Karaj was similar to a leading cultivar Hiratanenashi in Japan, for astringency removal by both CO₂ and ethanol treatments, while, according to this results, Japanese cultivar had not shown suitable response to ethanol, while it successfully responded to dry ice treatment.

Treatments to remove astringency of persimmon fruit often cause fruit softening. Astringency removal treatment induced ethylene production in persimmon which causes to the fruits softening. In this study, the firmness of both cultivars decreased significantly after treatments, however, the average of flesh firmness was significantly higher after dry ice than after ethanol treatments.

1 AND 2. Assistance Professor and Former MS student, Department of Horticulture, Shahed University, Tehran.
(*Corresponding Author Email: o.khademi@shahed.ac.ir)

Total soluble solid contents under the astringency removal treatments in both cultivars reduced significantly. This reduction is due to the removing of soluble tannins responsible for fruit astringency, since they are included in SSC measurements when not polymerized. Moreover, the results showed that ascorbic acid content is not affected by astringency removal treatments.

Conclusions: The results presented here showed that removing astringency from persimmon cvs. Karaj and Japanese were achieved by postharvest application of dry ice in the poly ethylene container. Results also showed that dry ice was more effective than ethanol in astringency removal and retained higher quality of fruit. Dry ice is available treatment in Iran and it can be commercially used for removing astringency of Iranian persimmon.

Key word: Astringent taste, dry ice, firmness, persimmon and soluble tannin

برآورد مقایسه‌ای پارامترهای $L^*a^*b^*$ از داده‌های RGB عکس دیجیتالی با استفاده از دستگاه سنجش رنگ IMG-Pardazesh

سید علی جعفرپور

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۱۳

چکیده

رنگ و ویژگی‌های ظاهری سطح یک ماده غذایی به‌عنوان اولین پارامترهایی هستند که توسط مصرف‌کننده مورد قضاوت قرار گرفته و مبنای رد یا قبول آن ماده می‌باشد. در این پژوهش کارایی دستگاه IMG-Pardazesh در خصوص اندازه‌گیری رنگ در مقایسه با سیستم $L^*a^*b^*$ CIE، سیستم Hunter lab و سیستم استاندارد Patch Tool مورد ارزیابی قرار گرفت. بر این مبنا میزان عددی همبستگی (R^2) موجود بین سه پارامتر L^* ، a^* و b^* بدست آمده از دستگاه IMG-Pardazesh در مقایسه با سیستم $L^*a^*b^*$ CIE به ترتیب معادل ۰/۹۹۸، ۰/۹۹۶، ۰/۹۸۰ و در مقایسه با داده‌های Hunter lab معادل ۰/۹۸۳، ۰/۹۸۱ و ۰/۸۷۱ و با داده‌های نرم افزار Patch-color دارای میزان همبستگی (R^2) معادل ۰/۹۳۵، ۰/۸۸۱ و ۰/۹۵۳ بود. در خصوص دستگاه اندازه‌گیری رنگ IMG-Pardazesh از بین ارزش عددی پارامترهای رنگ $L^*a^*b^*$ ، مقایسه آن با داده‌های سیستم CIE $L^*a^*b^*$ کاملا مشهود است که شاخص خطای جذر میانگین مربعات RMSD در تمامی پارامترها با اختلاف جزئی کمتر بوده و در مقایسه با سیستم Hunter lab به جز پارامتر a در سایر پارامترها دارای ارزش عددی بسیار پایین‌تری بود. به‌علاوه محاسبه خطای نرمال شده میانگین‌ها نشان‌دهنده وجود خطای به مراتب بالاتر در تمامی پارامترها در سیستم $L^*a^*b^*$ CIE و خطای بسیار بالاتر در دو پارامتر L^* و b^* در سیستم Hunter lab می‌باشد. نتیجه اینکه بر مبنای این شاخص نیز می‌توان بی‌برد که دستگاه IMG-Pardazesh از میزان خطای کمتری در برآورد پارامترهای رنگ در مقایسه با سایر سیستم‌ها برخوردار می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تصویر دیجیتالی، سنجش رنگ، RGB، $L^*a^*b^*$

مقدمه

رنگ و جلوه ظاهری مواد غذایی از مهمترین پارامترهایی مد نظر مشتریان بمنظور برآورد کیفیت ماده غذایی حتی قبل از قرار دادن آن ماده در دهان می‌باشند و لذا به‌عنوان فاکتورهای حساس در خصوص رد یا قبول آن شناخته می‌شوند. اگرچه که سیستم‌های مختلفی مبتنی بر فضاهای رنگی برای برآورد رنگ وجود دارد اما یکی از متداولترین این سیستم‌ها برای برآورد رنگ مواد غذایی استفاده از فضای سه بعدی رنگ در قالب پارامترهایی $L^*a^*b^*$ می‌باشد که دلیل این امر توصیف یکنواخت رنگ و همخوانی بسیار بالای این سیستم با سیستم درک رنگ توسط انسان می‌باشد. به منظور آنالیز دیجیتالی تصویر یک

ماده غذایی، لازم است که از سیستم اندازه‌گیری رنگ هر پیکسل در سطح یک ماده آگاهی داشته باشیم. با این وجود در حال حاضر هیچ سیستم تجاری اندازه‌گیری رنگ پارامترهای $L^*a^*b^*$ در قالب پیکسل وجود ندارد زیرا دستگاه‌های تجاری اندازه‌گیری رنگ موجود عموماً یک سطح کوچک چند سانتی‌متر مربعی را پوشش می‌دهند که غیر قابل تعمیم به کل سطح نمونه می‌باشد (Nobbs and Conolly, 2000).

برآورد رنگ می‌تواند از طریق بازرسی بصری (توسط انسان) یا با استفاده از دستگاه‌های رنگ‌سنجی صورت گیرد. حال اگرچه که بررسی رنگ توسط انسان یک روش کاملاً منطقی حتی در مقادیر متفاوت روشنایی می‌باشد، با این وجود این برآورد بصورت ذهنی بوده و مقادیر آن می‌تواند از یک مشاهده‌کننده تا مشاهده‌کننده دیگری بطور گسترده‌ای متغیر باشد. برای تبدیل مقادیر رنگ از حالت ذهنی به عینی از استانداردهای رنگی به‌عنوان رفرنس استفاده می‌گردد.

استادیار، گروه شیلات - فراوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری.

* - نویسنده مسئول: (Email: a.jafarpour@sanru.ac.ir)

فضای رنگ بر مبنای پارامترهای a^*, b^*, L^*

موقعی که از فضای رنگ Yxy استفاده می‌شود یک مشکل هنوز باقی می‌ماند، بدین معنی که فواصل یکسان روی نمودار رنگ پذیری xy معادل اختلاف رنگ مشاهده شده نمی‌باشد. در سال ۱۹۷۶، CIE یک فضای رنگ متفاوتی را بر مبنای تبدیل غیرخطی مقادیر XYZ معرفی کرد تا همبستگی خیلی بیشتری بین اختلاف رنگ ثبت شده و رنگ مشاهده شده بوجود آید. این مقیاس، به نام فضای رنگ $L^*a^*b^*$ نامیده شد. در این فضا L^* بیانگر روشنایی بوده و a^*, b^* مختصات رنگ می‌باشند؛ a^* محور قرمز/سبز ("+" به سمت قرمز و "-" به سمت سبز)، و b^* محور زرد/آبی ("+" به سمت زرد و "-" به سمت آبی) می‌باشد و در این رابطه عمده‌ترین دستگاه‌های اندازه‌گیری رنگ عبارت‌اند از:

Minolta Chroma Meter
HunterLab Colorimeter
Dr. Lange Colorimeters
Lovinbond cam systems

در سال‌های اخیر از تصاویر کامپیوتری بمنظور اندازه‌گیری رنگ مواد غذایی مختلف استفاده گردیده است و دلیل این امر دستاوردهای مشهود این روش از قبیل آنالیز تمامی سطح ماده غذایی و کمی نمودن ویژگی‌های سطحی و نقص‌های آن در مقایسه با دستگاه‌های رنگ‌سنج متداول می‌باشد. روش محاسباتی به‌همراه ترکیبی از دوربین دیجیتالی، کامپیوتر و برنامه‌های گرافیکی به‌عنوان یک تکنیک نسبتاً ارزان‌تر و تطبیق‌پذیرتر برای اندازه‌گیری رنگ بسیاری از مواد غذایی در مقایسه با دستگاه‌های متداول اندازه‌گیری رنگ می‌باشد. در این رابطه استفاده از دوربین دیجیتالی به‌عنوان یک ابزار مفید در برآورد رنگ یک ماده می‌باشد که از این طریق می‌توان رنگ یکایک پیکسل‌های تصویر یک جسم را ثبت نمود (Leóna, Meryb, Pedreschic, & León, 2006). در این دوربین‌ها، نور منعکس شده از یک جسم از طریق سه سنسور به ازای هر پیکسل نمایه می‌گردد. در این حالت متداول‌ترین مدل رنگ مد RGB می‌باشد که بر مبنای آن هر سنسور میزان تراکم طیف نور قرمز (R)، سبز (G) و آبی (B) را دریافت می‌نماید. امروزه گرایش به سمت آنالیز دیجیتالی تصاویر مواد غذایی می‌باشد که دلیل این امر در درجه اول آنالیز نقطه‌ای، محاط نمودن گروه کوچکی از پیکسل‌ها به‌منظور برآورد ویژگی‌های جزئی یک ماده و در درجه دوم آنالیز سراسری یک ماده از طریق هیستوگرام رنگ به‌منظور آنالیز یکنواختی آن ماده می‌باشد (Jackman & Sun, 2013). در مطالعه‌ای که Mendoza و همکاران (۲۰۰۶) در خصوص اندازه‌گیری رنگ مواد غذایی با استفاده از تصاویر دیجیتالی انجام دادند عنوان نمودند که عواملی همچون زوم دوربین، فاصله دوربین از نمونه و میزان وضوح دوربین می‌بایست ثابت بوده و عواملی مانند رنگ پس زمینه و شکل نمونه (انحنای موجود در شکل نمونه) به‌طرز معنی‌داری بر رنگ محاسبه شده تاثیر گذار

متأسفانه در این روش‌ها پروسه برآورد رنگ نیاز به بررسی و زمان بیشتری داشته و مهم‌تر اینکه فرد مشاهده‌کننده نیز می‌بایست از مهارت و ویژگی‌های لازم برخوردار باشد. بدین سبب توصیه می‌شود برای برآورد رنگ مواد از ابزار و ادوات اندازه‌گیری رنگ استفاده گردد (Francis & Clydesdale, 1975; Tanska et al., 2005).

مقادیر سه گانه رنگ^۱

در سال ۱۹۳۱، کمیسیون بین‌المللی Eclairage (معروف به CIE)، که یک مجمع عملی با حضور نمایندگان بسیاری از کشورها می‌باشد، تشکیل جلسه داد تا برای تست نمودن و بیان رنگ بصورت ریاضی، یکسری ثابت‌هایی را تعریف و پیشنهاد نماید. بر مبنای گزارش این کمیسیون، یکسری از "منحنی‌های واکنش طیفی"^۲ منطبق با قابلیت چشم انسان در مشاهده نورهای رنگی ارائه گردیده و در ادامه توابع انطباق نوری^۳ ناظر استاندارد^۴ پایه‌گذاری شدند. توابع واکنش طیفی مذکور، از سه تابع واکنش نوری استفاده نمودند: $x(\lambda)$ که به‌عنوان پاسخ عمومی چشم مردم به نور قرمز بوده، $y(\lambda)$ که به‌عنوان پاسخ عمومی چشم مردم به نور سبز بوده و $z(\lambda)$ که به‌عنوان پاسخ عمومی چشم مردم به نور آبی می‌باشد (جعفرپور، ۱۳۹۱).

رنگ یک شیء نتیجه نسبت‌های مختلفی از نورهای سبز، آبی و قرمز است که به چشم انعکاس یافته یا انتقال داده می‌شود. زمانیکه عواملی همچون توزیع توان طیف منبع نور (منحنی طیف منبع نور)، منحنی انعکاس شیء، و توابع انطباق نوری ناظر استاندارد با یکدیگر درآمیخته شوند، می‌توان روابط ریاضی بین اندازه‌گیری رنگ و مشاهده بصری رنگ را بنیان نهاد. یک چنین اجماع ریاضی منجر به ایجاد مقادیر XYZ یا مقیاس سه‌گانه رنگ می‌شود.

از مقیاس XYZ می‌توان به‌عنوان ابزاری استفاده نمود تا میزان نور قرمز، سبز و آبی بطور استاندارد تخمین زده شده و میزان آنها را با یک نمونه مقایسه نموده تا اختلاف رنگ را مشخص کند. چالش در اینجا بود که بدلیل محاسبات ریاضی هر تابع، تجسم اختلاف رنگ بصورت بصری در قالب محاسبات ریاضی مشکل بود. سپس مقادیر XYZ به فرم خطی معادله سه‌گانه تبدیل شده و برای تجسم بر روی یک نمودار دوبعدی ترسیم شدند. این دومین اشتقاق به نام مقیاس رنگ‌پذیری^۴ یا فضای رنگ Yxy نامیده شد. در این مقیاس، مقدار Y به درجه روشنایی اشاره دارد و xy برآوردی از میزان رنگ یعنی طیف رنگ و اشباعیت آن، مستقل از پارامتر روشنایی می‌باشد (جعفرپور، ۱۳۹۱).

- 1 Tristimulus colors
- 2 Spectra response curves
- 3 Standard observer
- 4 Chromaticity scale

مواد و روش‌ها

در این پژوهش سعی بر این بود تا با الگوبرداری از دستگاه اندازه‌گیری رنگ Lovibond-Cam system، یک دستگاه تقریباً مشابه با قابلیت کارایی یکسان در تهیه یک تصویر دیجیتالی و برآورد پارامترهای رنگ از روی آن با کمک برنامه اختصاصی رنگ سنجی طراحی شود و بر این مبنای دستگاه IMG-Pardazesh Cam-System XI به شماره ثبت اختراع ۷۸۲۱۹ (شرکت ابزارکاران فن پویای شمال - هسته فن‌آور مستقر در مرکز رشد واحدهای فن‌آوری طبرستان - دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری) طراحی و ساخته شد (شکل ۱).

می‌باشد (Mendozaa, Dejmekb, & Aguileraa, 2006). با فرض اینکه دوربین‌های دیجیتالی اطلاعات RGB را بر مبنای پیکسل دریافت می‌دارند هدف از این پژوهش ارائه راهکاری در خصوص طراحی و ساخت یک دستگاه تصویربرداری با کمک دوربین بر مبنای استانداردهای CIE در تهیه یک تصویر دیجیتال دقیق و اندازه‌گیری پارامترهای رنگ L^*a^*b از تصاویر دیجیتالی RGB با کمک نرم‌افزار تخصصی که به این منظور طراحی شده بود می‌باشد.

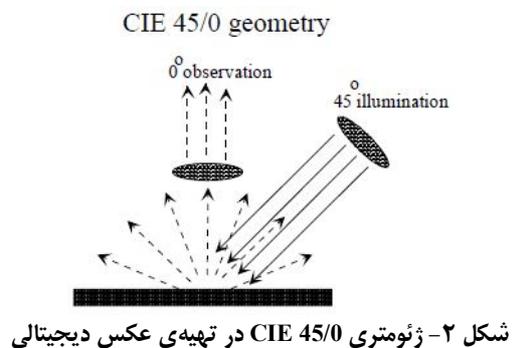


شکل ۱- نمایی از دستگاه سنجش رنگ IMG-Pardazesh Cam-System XI

شرایط تهیه تصویر دیجیتالی با دستگاه IMG-Pardazesh در شرایط ذیل صورت پذیرفت:
 میزان روشنایی = ۲۲۰۰ لوکس
 ISO = اتوماتیک
 تعداد تصویر در ثانیه = ۳۰ fps
 همچنین رنگ پس‌زمینه طوری انتخاب شود با ثبت پارامتر L, a و b به ترتیب به میزان ۵۰، ۱ و ۱ کمترین تاثیر بر رنگ ثبت شده و محاسبه شده را داشته باشد.

از طریق عکس تهیه شده از صفحه رنگی بنام Color Checker، (شکل ۳) قابلیت دستگاه ساخته شده در برآورد پارامترهای رنگ $(L^*a^*b^*)$ از روی پارامترهای RGB با کمک نرم‌افزار Patch Tool (نرم‌افزار اختصاصی سنجش رنگ، Babel Color Company، Canada) و مقایسه‌ی کارایی آن با سیستم استاندارد CIE L^*a^*b در

بدین منظور مبنای کار استفاده از سیستم استاندارد عکس‌برداری مطابق دستورالعمل CIE بود که در این راستا ژئومتری CIE 45/0 انتخاب گردید (شکل ۲).



شکل ۲- ژئومتری CIE 45/0 در تهیه‌ی عکس دیجیتالی

داده‌های حاصل از برنامه نرم‌افزاری Patch Tool با مختصات D65 و زاویه دید ۲ درجه به‌عنوان داده‌های استاندارد برآورد گردید.

دستگاه Lovibond Cam-system و همچنین استانداردهای رنگ در سیستم Hunter lab مورد ارزیابی قرار گرفت. در ضمن میزان کارایی هر دو سیستم از طریق مقایسه داده‌های بدست آمده با



شکل ۳- تصویری از صفحه رنگی یا Color-checker مورد استفاده در مقایسه بین سیستم‌های اندازه‌گیری پارامترهای Lab

سایر سیستم‌های اندازه‌گیری رنگ م باشند.

و به‌منظور برآورد میانگین عملکرد این سیستم‌ها از فرمول ذیل استفاده شد:

$$\bar{e} = \frac{e_L + e_a + e_b}{3} \quad (7)$$

نتایج و بحث

همانطور که قبلاً ذکر گردید در این مطالعه یکی از اهداف بررسی کارایی دستگاه ساخته شده‌ی سنچس رنگ در برابر سیستم های CIE $L^*a^*b^*$ و Hunterlab بود اما برای دستیابی به این هدف یک استاندارد نیز لازم می‌باشد که در این راستا از داده‌های استاندارد پارامترهای رنگ $L^*a^*b^*$ با کمک نرم‌افزار Patch-Tool استفاده گردید و بر مبنای نتایج بدست آمده همبستگی بسیار مناسبی بین داده‌های پارامترهای رنگ مشاهده گردید. بر اساس نتایج بدست آمده، میزان عددی همبستگی (R^2) موجود بین سه پارامتر L^* ، a^* و b^* بدست آمده از CIE $L^*a^*b^*$ با داده‌های سیستم Hunterlab معادل ۰/۹۸۹، ۰/۹۸۱ و ۰/۹۱۷ و با داده‌های نرم‌افزار Patch-Tool به ترتیب معادل ۰/۹۲۸، ۰/۸۷۵ و ۰/۸۷۰ بوده (جدول ۱) و این در حالی بود که داده‌های بدست آمده از دستگاه IMG-Pardazesh در مقایسه با سیستم CIE $L^*a^*b^*$ به ترتیب معادل ۰/۹۹۶، ۰/۹۹۸ و ۰/۹۸۰ و در مقایسه با داده‌های Hunterlab معادل ۰/۹۸۳، ۰/۹۸۱ و ۰/۸۷۱ و با داده‌های نرم‌افزار Patch-color دارای میزان همبستگی (R^2) معادل ۰/۹۳۵، ۰/۸۸۱ و ۰/۹۵۳ به ترتیب برای سه پارامتر L^* ، a^* و b^* بود (جدول ۲، نمودارهای ۱-۳). این داده‌ها بیانگر این است که دستگاه IMG-Pardazesh با سیستم CIE $L^*a^*b^*$ از قابلیت اطمینان و استناد بالایی در تهیه یک تصویر دیجیتالی مناسب از یک ماده به‌منظور استخراج و ارزیابی داده‌های رنگ برخوردار می‌باشد (جدول ۲،

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در نهایت مقادیر عددی بدست آمده به نرم‌افزار Excel منتقل شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها در خصوص برآورد میزان همبستگی بین داده‌های حاصل از سیستم های مختلف صورت گرفت. در ادامه برآورد ارزش عددی داده‌های بدست آمده با کمک پارامتر خطای جذر میانگین مربعات^۱ (RMSD) مطابق فرمول های ذیل صورت گرفت:

$$RMSD_L = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (L_i^* - L_p^*)^2}{n}} \quad (1)$$

$$RMSD_a = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (a_i^* - a_p^*)^2}{n}} \quad (2)$$

$$RMSD_b = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (b_i^* - b_p^*)^2}{n}} \quad (3)$$

که L_i^* ، a_i^* ، b_i^* پارامترهای رنگ بدست آمده از سیستم استاندارد Patch-Tool بوده و L_p^* ، a_p^* ، b_p^* پارامترهای رنگ بدست آمده سایر سیستم‌های اندازه‌گیری رنگ می‌باشند.

در نهایت خطای نرمال شده میانگین داده‌ها^۲ (e) مورد ارزیابی قرار گرفت که به ترتیب برای پارامترهای رنگ بصورت ذیل محاسبه می‌گردد:

$$e_L = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|L_i^* - L_p^*|}{\Delta L} \quad (4)$$

$$e_a = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|a_i^* - a_p^*|}{\Delta a} \quad (5)$$

$$e_b = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|b_i^* - b_p^*|}{\Delta b} \quad (6)$$

که L_i^* ، a_i^* ، b_i^* پارامترهای رنگ بدست آمده از سیستم استاندارد Patch-color بوده و L_p^* ، a_p^* ، b_p^* پارامترهای رنگ بدست آمده

1Root Mean Square Deviation
2Mean Normalized Error

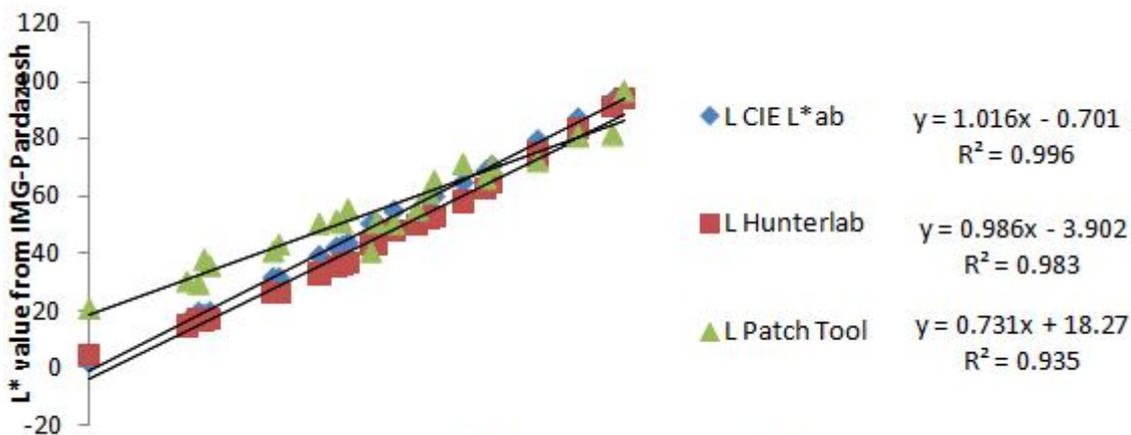
نمودارهای ۱-۳).

Pardazesh از بین ارزش عددی پارامترهای رنگ $L^*a^*b^*$ و مقایسه آن با داده‌های سیستم L^*ab CIE کاملاً مشهود است که شاخص RMSD در تمامی پارامترها با اختلاف جزئی کمتر بوده و در مقایسه با سیستم Hunterlab به جز پارامتر a در سایر پارامترها دارای ارزش عددی بسیار پایین‌تری بود. عبارت دیگر مراجعه به پارامتر RMSD نیز مهر تایید دیگری بود بر قابل استناد بودن داده‌های بدست آمده از تصویر دیجیتالی حاصل از دستگاه سنجش رنگ IMG-Pardazesh می‌باشد.

در پژوهشی که توسط افشاری و فرحناکی (۱۳۸۸) بمنظور کاربرد نرم‌افزار فتوشاپ در برآورد پارامترهای رنگ مواد صورت گرفت اعلام گردید که با وجود میزان همبستگی بالای ۰/۹۹ بین داده‌های حاصل از فتوشاپ و دستگاه اندازه‌گیری رنگ Hunterlab، اما در خصوص ارزش عددی این مقادیر در صورت محاسبه پارامتر اصلاح نشده RMSD، به‌عنوان مثال این مقدار برای پارامتر L^* معادل ۱۶/۶۷۳ خواهد بود که بیانگر تفاوت آشکاری بین این دو نوع سیستم در برآورد مقادیر واقعی رنگ بوده و لذا با استفاده از فرمول‌های مربوطه مقدار اصلاح شده RMSD مجدداً حساب شده و مقدار آن برای پارامتر L^* معادل ۲/۵۶۵ بیان گردیده و همین روند برای سایر پارامترها یعنی a^* و b^* نیز صورت گرفت (جویباری و فرحناکی، ۱۳۸۸).

جدول ۳- شاخص RMSD پارامترهای $L^*a^*b^*$ بدست آمده از برنامه Patch-Tool با سیستم L^*ab CIE، دستگاه IMG-Pardazesh و سیستم Hunterlab

Hunterlab و سیستم Pardazesh			
پارامتر	L^*	a^*	b^*
CIE L^*ab	۹/۷۵	۱۵/۸۷	۱۶/۴۲
IMG-Pardazesh	۹/۳۳	۱۵/۰۰	۱۳/۱۳
Hunterlab	۱۲/۴۳	۱۲/۱۳	۲۱/۲۸



نمودار ۱- ضریب همبستگی پارامتر L^* بدست آمده از دستگاه IMG-Pardazesh با سیستم L^*ab CIE، Hunter lab و Patch Tool

جدول ۱- ضریب همبستگی پارامترهای $L^*a^*b^*$ بدست آمده از سیستم L^*ab CIE با سیستم Hunterlab و داده‌های Patch Tool

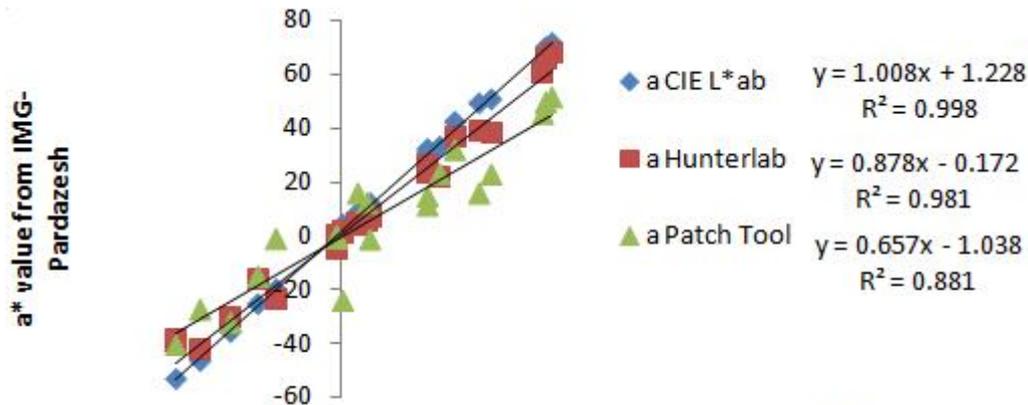
پارامتر	L^*	a^*	b^*
Hunterlab	۰/۹۸۹	۰/۹۸۱	۰/۹۱۷
Patch Tool	۰/۹۲۸	۰/۸۷۵	۰/۸۷۰

جدول ۲- ضریب همبستگی پارامترهای $L^*a^*b^*$ بدست آمده از دستگاه IMG-Pardazesh با سیستم L^*ab CIE، سیستم Hunterlab و داده‌های Patch Tool

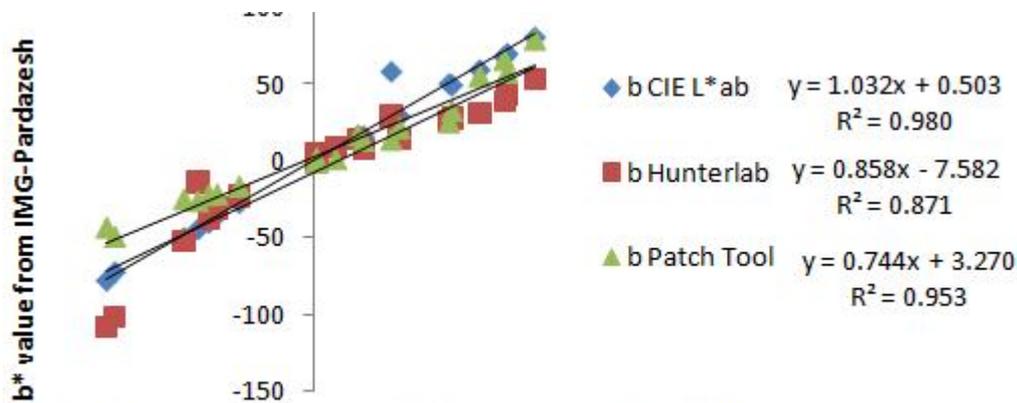
پارامتر	L^*	a^*	b^*
CIE L^*ab	۰/۹۹۶	۰/۹۹۸	۰/۹۸۰
Hunterlab	۰/۹۸۳	۰/۹۸۱	۰/۸۷۱
Patch Tool	۰/۹۳۵	۰/۸۸۱	۰/۹۵۳

نکته قابل تامل در خصوص داده‌های مربوط به پارامترهای رنگ بدست آمده از عکس‌های دیجیتالی در مقایسه با دستگاه‌های تجاری اندازه‌گیری رنگ از قبیل Hunter color meter و Lovibond cam-system در این است که تنها معیار انتخاب، تشابه روند تغییرات در خصوص پارامترهای رنگ نمی‌باشد بلکه می‌بایست ارزش عددی داده‌های بدست آمده نیز مورد ارزیابی قرار گیرند که این کار با مراجعه به پارامتری به نام خطای جذر میانگین مربعات (RMSD) صورت می‌گیرد.

به‌عبارتی هرچه داده‌های مربوط به پارامتر RMSD کوچکتر باشند نشان‌دهنده معتبر بودن سیستم مورد آزمایش در برآورد پارامترهای رنگ در مقایسه با سیستم استاندارد می‌باشد. با توجه به داده‌های حاصل از این معادلات که در جداول ۳ ارائه شده‌اند، می‌توان به این نکته پی برد که در خصوص دستگاه اندازه‌گیری رنگ IMG-



شکل ۲- ضریب همبستگی پارامتر a^* بدست آمده از دستگاه IMG-Pardazesh با سیستم $L^*a^*b^*$ ، Hunterlab و Patch Tool



شکل ۳- ضریب همبستگی پارامتر b^* بدست آمده از دستگاه IMG-Pardazesh با سیستم $L^*a^*b^*$ ، Hunterlab و Patch Tool

Δb به ترتیب برای پارامتر a^* و b^* که بین $+120$ الی -120 می‌باشد عدد 240 انتخاب گردید.

با نگاهی به داده‌های حاصل از شاخص e (فرمول ۷) در خصوص پارامترهای رنگ، روندی تقریباً مشابه با شاخص RMSD مشاهده می‌گردد بطوریکه مقدار عددی این شاخص برای e_a ، e_L و e_b دستگاه IMG-Pardazesh به ترتیب معادل 0.776 ، $1/184$ و 0.968 برآورد گردید و این در حالی بود که همین اعداد برای سیستم $L^*a^*b^*$ به ترتیب معادل 0.822 ، $1/243$ و $1/124$ و برای سیستم Hunterlab معادل $1/085$ ، 0.933 و $1/423$ محاسبه شد (جدول ۴) که نشان‌دهنده وجود خطای به مراتب بالاتر در تمامی پارامترها در سیستم $L^*a^*b^*$ و خطای بسیار بالاتر در دو پارامتر L^* و b^* در سیستم Hunterlab می‌باشد. نتیجه اینکه بر مبنای این شاخص نیز می‌توان پی برد که دستگاه IMG-Pardazesh از میزان خطای کمتری در برآورد پارامترهای رنگ در مقایسه با سایر سیستم‌های بررسی شده برخوردار می‌باشد. در کل میانگین کلی مقدار خطای موجود در مورد سیستم $L^*a^*b^*$ و

از سویی دیگر در مطالعه حاضر با توجه به دامنه‌ی عددی قابل اندازه‌گیری رنگ و یا به عبارتی مقدار کمینه و بیشینه پارامترهای قابل اندازه‌گیری در هر سه سیستم Patch-color، $L^*a^*b^*$ و Hunterlab که بصورت ذیل می‌باشند:

$$0 \leq L^* \leq 100$$

$$-120 \leq a^* \leq 120$$

$$-120 \leq b^* \leq 120$$

لذا دیگر نیازی به محاسبه مقدار تعدیل شده پارامتر RMSD نمی‌باشد.

شاخص مهم دیگری که می‌تواند در ارزیابی اندازه‌گیری‌های پارامترهای رنگ ($L^*a^*b^*$) بدست آمده از دستگاه IMG-Pardazesh، $L^*a^*b^*$ و Hunterlab و مقایسه آن با سیستم استاندارد Patch Tool مورد بررسی و استفاده قرار بگیرد محاسبه خطای نرمال شده میانگین‌ها (فرمول‌های ۷-۴) می‌باشد. با توجه به دامنه‌ی عددی ذکر شده برای پارامترهای $L^*a^*b^*$ در بالا، میزان ΔL برای پارامتر L^* که بین -100 تا 100 می‌باشد عدد 100 و Δa و

سیستم Hunterlab نسبت به سیستم Patch Tool در مقایسه با دستگاه IMG-Pardazesh به ترتیب حدود ۲ و ۳ برابر می‌باشد جدول ۴- مقادیر مربوط به خطای نرمال شده و میانگین خطای داده‌های بدست آمده از دستگاه IMG-Pardazesh و CIE L*a*b و Hunter lab در

مقایسه با سیستم استاندارد Patch-Tool				نوع سیستم
میانگین کلی خطا (\bar{e})	میزان خطای نرمال شده میانگین داده‌ها			
	e_b	e_a	e_L	
۰/۹۷۶	۰/۹۶۸	۱/۱۸۴	۰/۷۷۶	دستگاه IMG-Pardazesh
۱/۶۰۳	۱/۱۲۴	۱/۲۴۳	۰/۸۲۲	CIE L*a*b
۲/۴۹۳	۱/۴۲۳	۰/۹۳۳	۱/۰۸۵	Hunterlab

CIE ($L^*a^*b^*$) حاصل دستگاه IMG-Pardazesh با سیستم CIE $L^*a^*b^*$ و سیستم Patch-Tool به ترتیب حدود ۰/۹۸ و بیشتر و ۰/۸۷ و بیشتر برآورد گردید. لذا عمده‌ترین فاکتور در داشتن اطمینان خاطر بمنظور بدست آوردن داده‌های قابل قبول در خصوص پارامترهای سه گانه رنگ استفاده از یک سیستم مناسب تهیه تصاویر دیجیتالی می‌باشد که از کیفیت مناسب بمنظور تبدیل پارامترهای RGB به $L^*a^*b^*$ برخوردار باشد که دستگاه IMG-Pardazesh طراحی شده از این مطالعه با توجه به داده‌های بدست آمده، از این ویژگی کاملاً مطلوب برخوردار بوده و می‌تواند با اطمینان خاطر در برآورد پارامترهای رنگ مواد از آن استفاده قرار گیرد.

قدردانی

به این وسیله از مدیریت مرکز رشد واحدهای فن‌آوری طبرستان وابسته به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به دلیل حمایت مالی از ایده ساخت دستگاه سنجش رنگ IMG-Pardazesh Cam-System XI سپاسگزاری می‌گردد.

Leon و همکاران (۲۰۰۶) دستگاهی را بمنظور تهیه عکس دیجیتالی طراحی و ساخته تا بر مبنای سه پارامتر RGB پارامترهای سه‌گانه رنگ یعنی $L^*a^*b^*$ را محاسبه نمایند. این پژوهشگران در ابتدا با کمک داده‌های $L^*a^*b^*$ و XYZ بدست آمده از دستگاه مینولتا کروماتر CR200b و Hunter lab، داده‌های برآورد شده از روی پارامترهای RGB را در قالب مدل خاصی تعریف نمودند. در این پژوهش، از پنج مدل به منظور تبدیل داده‌ها به یکدیگر استفاده گردید که عبارت بودند از: مدل خطی، ربعی، گاما، مستقیم و شبکه عصبی. علاوه بر این، در تحقیق مذکور پیشنهاد گردید برآورد پارامترهای هر مدل بر مبنای به حداقل رساندن میانگین خطای مطلق محاسبه شده در مقایسه با دستگاه تجاری موجود در اندازه‌گیری رنگ صورت گیرد. بر اساس نتایج بدست آمده، مدل خطی دارای بیشترین درصد خطا (۴/۹۴٪) و مدل شبکه عصبی دارای کمترین درصد خطا (۰/۹۳٪) بود.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر میزان همبستگی بین داده‌های رنگ

منابع

- Francis, F. J., & Clydesdale, F. M. (1975). *Food Colorimetry Theory and Applications*.: Westport.
- Jackman, P., & Sun, D.-W. (2013). Recent advances in image processing using image texture features for food quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*, 29(1), 35-43.
- Leóna, K., Meryb, D., Pedreschic, F., & Leónc, J. (2006). Color measurement in $L^*a^*b^*$ units from RGB digital images. *Food Research International*, 39(10), 1084-1091.
- Mendozaa, F., Dejmekb, P., & Aguileraa, J. M. (2006). Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 41(3), 285-29
- Nobbs, J.H. & C. Connolly (2000). *Camera-based colour inspection Sensor Review*. MCB University Press, 20.14-19.
- Tanska, M., D. Rotkiewicz, W. Kozirok, & I. Konopka (2005). Measurement of the geometrical features and surface color of rapeseeds using digital image analysis. *Food Research International*, 38, 741-750.

Determination of L*a*b* Parameters from RGB of Digital Image by Application of IMG-Pardazesh Color Measurement Instrument

A.Jafarpour

Received: 2015.01.18

Accepted: 2015.05.03

Introduction: The use of computer vision technology has been highly successful in food classification in the past and it has continued this success in recent times. However, a number of opportunities to progress computer vision technology exist which are critically examined based on cost and feasibility. A range of hardware options are considered along with a range of software options. The economic cost of implementing new hardware continues to prove a major impediment. Thus future efforts need to be focused on maximizing the potential benefits of the existing hardware framework and instead concentrate on developing improved software. Of the improved software available the aspect that offers the greatest promise is more efficient analysis of food surface texture attributes which will lead to more powerful understanding of the relationships between quality factors and experimentally measured food quality.

Materials and Methods: In this study, the efficiency of IMG-Pardazesh instrument in color measurement in comparison with CIE L*ab, Hunterlab and Patch Tool color systems was evaluated. The IMG-Pardazesh instrument was designed and manufactured based on CIE 45/0 standard and all measurements were performed based on the ColorChecker® 24 Patch Classic target which is an array of 24 scientifically prepared natural, chromatic, primary and gray scale colored squares in a wide range of colors. Many of the squares represent natural objects, such as human skin, foliage and blue sky. Since they exemplify the color of their counterparts and reflect light the same way in all parts of the visible spectrum, the squares will match the colors of representative sample natural objects under any illumination, and with any color reproduction process.

Results and Discussion: According to the results, the regression value (R^2) of L*a*b* resulted from IMG-Pardazesh compared to CIE L*ab recorded at 0.996, 0.998 and 0.980, respectively. In comparison with Hunterlab, the values were equal to 0.983, 0.981, 0.871, and compared to Patch Tool system were 0.935, 0.881 and 0.953, respectively. However, to base an unbiased conclusion it is necessary to consider the numeric value of data that can be calculated in form of Root Mean Square Deviation (RMSD) rather than the similarity of color changes pattern. Therefore, as much as the RMSD value becomes smaller, the validity of color measuring instrument become greater compared to the standard system. RMSD was calculated following below formula:

$$RMSD_L = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (L_i^* - L_p^*)^2}{n}}$$
$$RMSD_a = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (a_i^* - a_p^*)^2}{n}}$$
$$RMSD_b = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (b_i^* - b_p^*)^2}{n}}$$

Which L_i^*, a_i^*, b_i^* are color parameter from Patch Tool system and L_p^*, a_p^*, b_p^* are color parameters from other color systems.

By calculating the RMSD index, it was revealed that numeric value of L*a*b* from IMG-Pardazesh was slightly lower than that of CIE L*ab. Compared to Hunterlab system, apart from a^* value, the RMSD was remarkably lower in L^* and b^* values. By calculating the normalized error of means (e), the values of e_L, e_a and e_b from IMG-Pardazesh were equal to 0.776, 1.184 and 0.968, respectively, whereas, the same parameters for CIE L*ab were recorded as 0.882, 1.243 and 1.124, respectively, and for Hunterlab system were found to be 1.085, 0.933 and 1.423. Furthermore, computing the average normalized error of means (\bar{e}) in CIE L*ab compared to L*a*b* from IMG-Pardazesh indicated that all color parameters had higher total average error and it terms of Hunterlab again L^* and b^* showed higher error. In a study conducted by Mendoza et al. (2006) on application of

image analyzing for evaluation of food items color, the authors stated that that sRGB standard (linear signals) was efficient to define the mapping between R'G'B' (no-linear signals) from the CCD camera and a device-independent system such as CIE XYZ. The CVS showed to be robust to changes in sample orientation, resolution, and zoom. However, the measured average color was shown to be significantly affected by the properties of the background and by the surface curvature and gloss. Thus all average color results should be interpreted with caution. L*a*b* system is suggested as the best color space for quantification in foods with curved surfaces. In another study on evaluation of L*a*b* units from RGB parameters, Leon et al. (2006) presented five conversion models as: linear, quadratic, gamma, direct, and neural network. Additionally, a method was suggested for estimating the parameters of the models based on a minimization of the mean absolute error between the color measurements obtained by the models and/or using a commercial colorimeter for uniform and homogenous surfaces. In the evaluation of the performance of the models, the neural network model stands out with an error of only 0.93%. the same authors also stated that on the basis of the construction of these models, it is possible to find a L*a*b* color measuring system that is appropriate for an accurate, exacting and detailed characterization of a food item, thus improving quality control and providing a highly useful tool for the food industry based on a color digital camera. In conclusion, the IMG-Pardazesh instrument have lower error in determination of L*a*b* parameter from RGB of digital image compared to the other tested systems.

Keywords: Digital Image, Color Measurement, RGB, L*a*b*

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک و استر متیل آن در روغن ماهی کیلکا و امولسیون روغن در آب آن

نجمه ملااحمدی بهراسمان^۱، رضا فرهوش^{۲*}، علی شریف^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۰۳

چکیده

در پژوهش حاضر، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، ساختار اسید چربی و پایدارسازی روغن ماهی کیلکا بررسی شد. اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک، استر متیل آن و آلفا-توکوفرول به‌عنوان شاهد مثبت، با یکدیگر مقایسه شدند. ۲۰۰ پی‌پی‌ام از آنتی‌اکسیدان‌های مذکور به روغن تخلیص شده اضافه شد و شرایط رژیم سینتیکی اکسایش در سه دمای ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد مهیا گردید. پس از رصد مداوم اکسایش طی زمان توسط آزمون پراکسید، نمودار تغییرات پراکسید نسبت زمان ترسیم و دوره القاء و شاخص‌های سینتیکی F ، ORR و A محاسبه شدند. بمنظور بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها در محیط آبی، امولسیون ده درصد روغن در آب تهیه و ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان به آن اضافه شد و روند اکسایش آن در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد پایش گردید. نتایج آزمایش تعیین ساختار اسید چربی نشان داد ساختار اسیدچربی این روغن، حاوی انواع غیراشباع، اشباع و چندغیراشباع (عمدتاً اسیدهای لینولئیک، ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزانوئیک) است. دما تأثیر معنی‌داری بر روند اکسایش روغن داشت. پاراهیدروکسی متیل بنزوئیک اندکی بیش از اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک پایداری اکسایشی روغن را افزایش داد. آلفا-توکوفرول در مقایسه با سایر آنتی‌اکسیدان‌ها عملکرد بهتری داشت. عملکرد پاراهیدروکسی متیل بنزوئیک نسبت به شاهد، در امولسیون بهتر بود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسید بنزوئیک، امولسیون روغن در آب، روغن ماهی

مقدمه

(*al.*, 2002). اهمیت بسیار بالای غذاهای عملگرا و غنی‌سازی شده (Diplock *et al.*, 1998) و گرایش افراد به مصرف این گونه محصولات غذایی، اهمیت مطالعه رفتار اکسایشی چربی‌های حاوی اسیدهای چرب امگا-۳ را در سیستم‌های مختلف غذایی توجیه می‌نماید. مطالعه اکسایش چربی در امولسیون‌ها و محیط‌های آبی و درک درست رفتار اکسایشی چربی در این سامانه‌ها به انتخاب و استفاده بهینه آنتی‌اکسیدان در آنها کمک می‌کند. از اینرو امکان استفاده از این روغن بسیار مفید و مغذی را در غنی‌سازی بسیاری از فراورده‌های امولسیونی مانند خامه، مایونز، بستنی، سوپ‌ها، سس‌ها، نوشابه‌ها و غذای کودک افزایش می‌دهد.

افزودن آنتی‌اکسیدان متداول‌ترین شیوه‌ی به تاخیر انداختن فساد اکسایشی و جلوگیری از افت کیفیت روغن‌ها در طول فرایند تولید و نیز زمان انبارداری مواد غذایی است. برای این منظور اغلب از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی استفاده می‌شود. کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی همواره با سوال در خصوص ایمنی و عواقب نامطلوب کاربرد آنها در مواد غذایی همراه بوده‌است. امروزه استفاده از آنتی-اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان روشی موثر و مفید برای کنترل فساد و

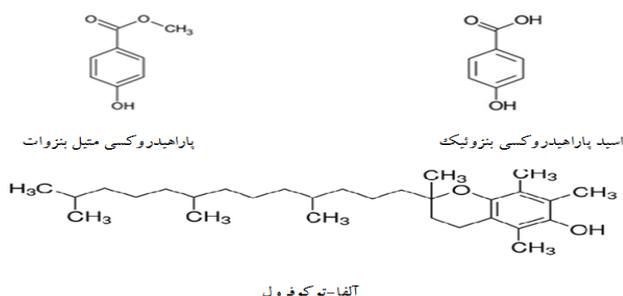
ماهی یکی از منابع روغنی ارزشمند در طبیعت است (Pak, 2005). روغن ماهی منبع غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ بخصوص اسیدهای ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزانوئیک است. اهمیت و نقش این اسیدهای چرب در سلامت انسان به اثبات رسیده است. کاهش کلسترول خون، پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی، رشد سلولهای مغز و تقویت سیستم ایمنی بدن از جمله فواید این اسیدهای چرب هستند (Fomuso *et al.*, 2002). اسیدهای چرب امگا-۳ از دسته اسیدهای چرب چندغیراشباع هستند و وجود بیش از دو پیوند دوگانه در ساختمان آنها موجب حساسیت بیش از حد به اکسایش می‌شود. اکسایش همچنین عامل محدودکننده کاربرد روغن ماهی در مواد غذایی فرآوری شده و مکمل‌های غذایی بوده است (Frankel *et*

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(* - نویسنده مسئول: Email: rfarhoosh@um.ac.ir)

چای، تمشک، وانیل، انگور، کانولا، برنج و زیتون یافت می‌شوند از اینرو، بخشی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند (Marinova & Yanishlieva, 1994). اسیدهای فنلی ممکن است به شکل آزاد، مزدوج یا استری وجود داشته باشند. این ترکیبات توانایی مهار رادیکال‌های آزاد و شکستن زنجیره اکسایش چربی‌ها را دارا هستند.

وجود یک حلقه فنلی و زنجیره‌های جانبی در ساختمان ملکولی اسیدهای فنولی، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را به آنها بخشیده است (Shahidi, 2005). Merkel و همکاران (۲۰۱۰) فعالیت آنتی-اکسیدانی استرهای پاراهیدروکسی بنزوئیک را در روغن آفتابگردان به روش نسیمت مورد بررسی قرار دادند. آنها بیشترین فعالیت آنتی-اکسیدانی را برای استر بوتیل و کمترین فعالیت را برای استر متیل گزارش نمودند.

در تحقیق حاضر، فعالیت آنتی-اکسیدانی اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک و استر متیل آن در روغن ماهی کیلکا در درجه حرارت‌های ۳۵، ۴۵ و ۵۵ سانتی‌گراد و امولسیون روغن در آب آن، در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، بررسی و با آلفا-توکوفرول مقایسه شد.



آلفا-توکوفرول

روغن تخلیص شده ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک، پاراهیدروکسی متیل بنزوات و آلفا-توکوفرول اضافه شد و درون پلیتهایی با قطر ۸ سانتی‌متر که ضخامت روغن درون آنها کمتر از یک میلی‌متر بود داخل آن در معرض دمای ۳۵، ۴۵، ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. به منظور پایش مداوم وضعیت اکسایش و بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدان‌ها، در طول آون‌گذاری در فواصل زمانی معین از روغن داخل پلیت‌ها نمونه برداری شد و عدد پراکسید بر اساس روش شانثا و دکر اندازه‌گیری گردید (Shantha & Decker, 1994). نمودار تغییرات عدد پراکسید نسبت به زمان ترسیم و دوره القاء و شاخص‌های سینتیکی A, F و ORR (جدول ۲) محاسبه گردید (Farhoosh & Hoseini-Yazdi, 2013) (شکل ۱). بمنظور بررسی رفتار آنتی‌اکسیدان‌ها در سامانه آبی، امولسیون ۱۰ درصد روغن در آب، حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام از آنتی‌اکسیدان‌های مذکور، با پروتئین ایزوله سویا به‌عنوان امولسیفایر، و دستگاه اولتراسوند تهیه، درون لوله‌هایی با حجم ۱۰ میلی‌لیتر ریخته و داخل آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد

کاهش کیفیت و عوارض ناشی از آن مطرح است (Maqsood & Benjakul, 2010). در بررسی پایداری اکسایشی روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف اسید کارنوسیک مشخص گردیده، اسید کارنوسیک می‌تواند بطور موثری از تولید محصولات اکسایشی در روغن ماهی ممانعت بعمل آورد (Wang et al., 2011). Maqsood و Benjakul (۲۰۱۰) قدرت آنتی‌اکسیدانی چهار ترکیب فنولی (کاتچین، اسید کافئیک، اسید فرولیک و اسید تانیک) را بر اکسایش‌پذیری امولسیون روغن ماهی بررسی کردند. موثرترین آنتی-اکسیدان در این خصوص اسید تانیک گزارش شد. Pazos و همکاران (۲۰۰۵) پایداری اکسایشی روغن ماهی و امولسیون آن در آب را در حضور پلی‌فنل‌های انگور مورد بررسی قرار دادند. در پژوهشی دیگر، اثر اسانس‌های پونه کوهی، جعفری و پساب روغن‌کشی زیتون در امولسیون ۵ درصد روغن ماهی مورد مطالعه قرار گرفت (Jimenez-Alvarez et al., 2008).

مشتقات اسیدهای بنزوئیک و سینامیک، دو گروه عمده از اسیدهای فنولی هستند که از دسته آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی محسوب می‌شوند. این ترکیبات بطور گسترده در اکثر مواد غذایی گیاهی نظیر

مواد و روش‌ها

مواد

کلیه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق تولیدی شرکت‌های تجاری مرک و سیگما با درجه خلوص تجزیه‌ای بودند. روغن خام ماهی کیلکا نیز از شرکت شیلات شمال ایران (بابلسر) تهیه گردید.

روش‌ها

ساختار اسید چربی روغن ماهی کلیکا توسط کروماتوگرافی گازی مشخص شد. دو خصوصیت قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH و قطبیت نسبی (Log P) به ترتیب با روش‌های سیجر (Siger et al., 2008) و گوردون (Gordon et al., 2001) ارزیابی گردید. روغن خام ماهی کیلکا (خصوصیات فیزیکیوشیمیایی آن در جدول ۱ آمده است) با روش کروماتوگرافی جذبی تخلیص، مواد آنتی و پروکسیدانی آن حذف و تری‌اسیل‌گلیسرول‌های آن استحصال شد. به ۴ گرم

نهاده شد.

میانگین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Mini Tab و بر اساس آزمون توکی در سطح پنج درصد ($P < 0.05$) انجام پذیرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن ماهی کیلکا

پارامتر	مقدار
موم (درصد)	۱۱/۰۷ ± ۰/۶۸
مواد غیرصابونی شونده (درصد)	۲/۶ ± ۰/۲۲
ترکیبات استرولی (درصد)	۷/۵۲ ± ۰/۲۸
ترکیبات توکوفرولی (میلی گرم توکوفرول بر کیلوگرم روغن)	۱۰۲/۸۶ ± ۴/۸۹
ترکیبات فنلی (میلی گرم اسید گالیک بر کیلوگرم روغن)	۶/۶۱ ± ۱۳۴/۰۲
عدد پراکسید (میلی گرم اکسیژن در کیلوگرم روغن)	۱/۷۸ ± ۰/۰۴
عدد اسیدی (میلی گرم هیدروکسید پتاسیم در گرم روغن)	۱۳/۹۸ ± ۰/۴۳
دانسیته (کیلوگرم بر مترمکعب)	۹۵۰/۵۷ ± ۰/۵۲

میانگین ± انحراف معیار

جدول ۲- شاخصهای سینتیکی اکسایش چربی

توضیحات	فرمول	شاخص
شیب منحنی دوره آغازین		سرعت واکنش $(MS^{-1})W_{inh}$
حاصل نسبت دوره القاء با و بدون آنتی‌اکسیدان	$F = IP_{inh}/IP_0$	شاخص پایدارسازی (F)
نسبت سرعت اکسایش در حضور و عدم حضور آنتی‌اکسیدان	$ORR = W_{inh}/W_0$	نسبت سرعت اکسایش
توانایی آنتی‌اکسیدان در مهار رادیکال و کاهش سرعت اکسایش	$A = F/ORR$	فعالیت

نتایج و بحث

ساختار اسید چربی

تعیین ساختار اسید چرب روغن کیلکا با کروماتوگرافی گازی نشان داد، اسیدهای چرب این روغن به ترتیب انواع غیراشباع (بخصوص اسید اولئیک)، اشباع (بخصوص اسید پالمیتیک) و چند غیر-اشباع (اسیدهای لینولئیک، ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزانوئیک) است.

فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در روغن

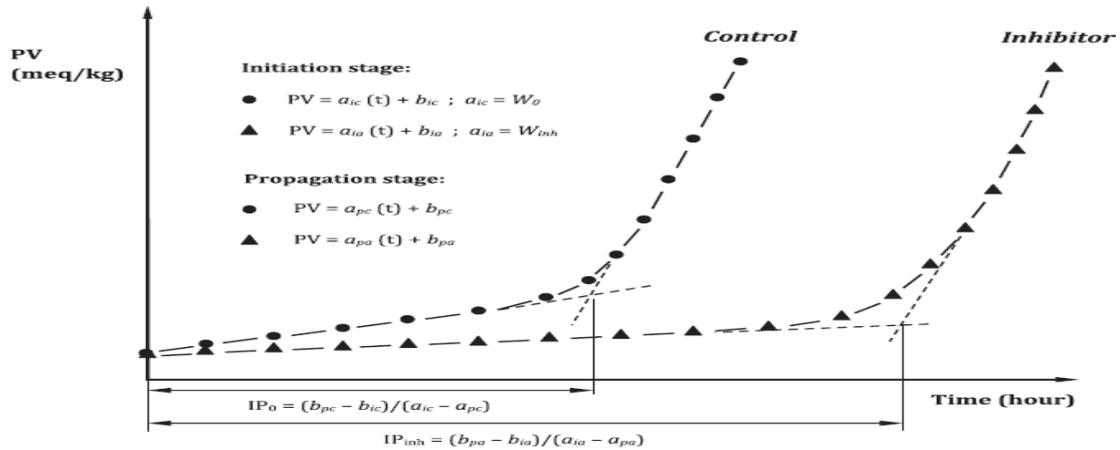
افزایش ده درجه‌ای دما، اثر معنی‌داری بر اکسایش روغن داشت بطوریکه دوره القاء (IP) نمونه شاهد از ۱۰/۱۷ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به ۲/۱ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (جدول ۳). نمودار تغییرات عدد پراکسید نسبت به زمان نمایشی بود (شکل ۱)، بطوریکه پس از دوره القاء و مرحله انتشار واکنش، روندی کاهشی در آن مشاهده شد؛ زیرا هیدروپراکسیدها ترکیباتی ناپایدار هستند و به سرعت تجزیه می‌شوند. در هر سه دمای مورد آزمون، پاراهیدروکسی متیل بنزوئیک اندکی بیش از اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک پایداری اکسایشی روغن را افزایش داد. اما بطور کلی تفاوت آماری معنی‌داری بین داده‌های آنها و نمونه شاهد مشاهده نشد. آلفا-توکوفرول نسبت به دو آنتی‌اکسیدان مذکور فعالیت

قوی‌تری از خود نشان داد بطوریکه حائز بیشترین مقدار IP و کمیت-های سینتیکی A و F در هر سه دمای ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد بود. دلایل نتایج فوق را می‌شود در ماهیت بسیار ناپایدار و حساس به اکسایش روغن ماهی و ساختار مولکولی آنتی‌اکسیدان‌های مورد آزمون، جست.

محققان پیشین نیز قدرت آنتی‌اکسیدانی اسیدهای فنلی و مشتقات آنها را با ساختمان مولکولی و بخصوص نوع، تعداد و محل گروه‌های هیدروکسیل و متوکسی روی حلقه آروماتیک مرتبط دانسته‌اند. حضور گروه‌های دهنده الکترون روی حلقه فنلی، انرژی لازم برای جدا شدن اتم هیدروژن را کاهش می‌دهند و در نتیجه قرارگیری اتم هیدروژن در اختیار رادیکال پراکسی آسانتر شده، موجب کاهش سرعت واکنش زنجیره‌ای اکسایش چربی‌ها می‌شود (Duh, 1994). یافته‌ها نشان می‌دهد اسیدهای فنلی دارای یک عامل هیدروکسیل نسبت به اسیدهای دارای چند عامل هیدروکسیل قدرت آنتی‌اکسیدانی کمتری دارند (Shahidi, 2005). داده‌های آزمون DPPH با مشاهدات Bountagkidou و همکاران (۲۰۱۰) همخوانی داشت، آنها اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک را فاقد توان مهار DPPH گزارش کرده‌بودند. افزایش طول زنجیره استری در اسیدهای فنلی، قدرت آنتی‌اکسیدانی آنها را افزایش می‌دهد. در واقع افزایش طول زنجیره هیدروکربنی، جدا شدن اتم هیدروژن از حلقه فنلی را تسهیل

آفتابگردان نشان داده شد استر متیل کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارد (Merk et al., 2010).

می‌نماید. در سری پارابن‌ها استر متیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری دارد. چنین نتیجه‌ای در پژوهش حاضر نیز بدست آمد. در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استرهای اسید پارهیدروکسی بنزوتیک در روغن



شکل ۱- نمایی از منحنی سینتیک تولید پراکسید طی اکسایش چربی و چگونگی محاسبه شاخصهای سینتیکی

جدول ۴- قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH (IC₅₀) و شاخص قطبیت نسبی (Log P)

Log P	IC ₅₀ (میکرو مول بر لیتر)	آنتی‌اکسیدان
۰/۰۶۵ ± ۰/۰۳ ^c	-	اسید پارهیدروکسی بنزوتیک
۰/۸۷ ± ۰/۰۳ ^b	-	پارهیدروکسی متیل بنزوات
۲/۳ ± ۰/۰۴ ^a	۱۰۵/۲۹ ± ۰/۲۳ ^a	آلفا-توکوفرول

جدول ۳- شاخص‌های سینتیکی (A: میزان فعالیت، ORR: نسبت سرعت اکسایش، F: شاخص پایدارسازی، W_{inh}: سرعت اکسایش در دوره القاء در حضور آنتی‌اکسیدان) و IP: دوره القاء (ساعت) روغن کیلکا در سه دمای ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان.

شاخص‌های سینتیکی					
A	ORR	F	W _{inh}	IP	دما، آنتی‌اکسیدان
-	-	-	۰/۹۱ ± ۰/۰۵ ^{hi}	۱۰/۱۷ ± ۰/۳ ^d	دمای ۳۵ درجه
-	-	-	۰/۹۱ ± ۰/۰۵ ^{hi}	۱۰/۱۷ ± ۰/۳ ^d	شاهد
۰/۶۷ ± ۰/۰۱ ^d	۱/۵۰ ± ۰/۰۱ ^{abc}	۱/۰۱ ± ۰/۰۳ ^d	۱/۳۷ ± ۰/۰۱ ^{gh}	۱۰/۲۹ ± ۰/۳۵ ^d	اسید پارا هیدروکسی بنزوتیک
۰/۵۸ ± ۰/۱۳ ^d	۱/۹۱ ± ۰/۳۸ ^{ab}	۱/۰۸ ± ۰/۰۳ ^d	۱/۷۳ ± ۰/۳۵ ^{fg}	۱۱/۰۳ ± ۰/۳۱ ^d	پارهیدروکسی متیل بنزوات
۹/۶۷ ± ۰/۲۳ ^c	۰/۵۹ ± ۰/۰۲ ^b	۵/۶۴ ± ۰/۱۵ ^C	۰/۵۳ ± ۰/۰۲ ⁱ	۵۶/۴۷ ± ۱/۵۹ ^a	آلفا-توکوفرول
-	-	-	۲/۷۳ ± ۰/۰۵ ^e	۳/۸۸ ± ۰/۲ ^{ef}	دمای ۴۵ درجه
-	-	-	۲/۷۳ ± ۰/۰۵ ^e	۳/۸۸ ± ۰/۲ ^{ef}	شاهد
۰/۸۴ ± ۰/۰۵ ^d	۱/۳۳ ± ۰/۰۵ ^{abcd}	۱/۱۴ ± ۰/۰۶ ^d	۳/۶۳ ± ۰/۱۵ ^c	۴/۳۱ ± ۰/۲۵ ^e	اسید پارا هیدروکسی بنزوتیک
۱/۰۱ ± ۰/۲۹ ^d	۲/۰۱ ± ۰/۳۷ ^{ab}	۱/۲۸ ± ۰/۳ ^d	۳/۴۳ ± ۰/۱۵ ^{cd}	۴/۳۷ ± ۰/۰۶ ^e	پارهیدروکسی متیل بنزوات
۲۳/۹۶ ± ۲/۰۷ ^a	۰/۳۲ ± ۰/۰۲ ^b	۷/۷۱ ± ۰/۲۴ ^a	۰/۹ ± ۰/۰۶ ^{hi}	۲۸/۹۶ ± ۰/۹۶ ^b	آلفا-توکوفرول
-	-	-	۴/۴۶ ± ۰/۰۵ ^b	۲/۱ ± ۰/۰۲ ^g	دمای ۵۵ درجه
-	-	-	۴/۴۶ ± ۰/۰۵ ^b	۲/۱ ± ۰/۰۲ ^g	شاهد
۰/۵۳ ± ۰/۰۵ ^d	۱/۸۴ ± ۰/۰۲ ^{ab}	۱/۰۰ ± ۰/۰۸ ^d	۸/۲۶ ± ۰/۰۸ ^a	۲/۰۸ ± ۰/۰۸ ^g	اسید پارا هیدروکسی بنزوتیک
۰/۶ ± ۰/۰۱ ^d	۱/۷۶ ± ۰/۰۵ ^{ab}	۱/۰۶ ± ۰/۰۱ ^d	۷/۹۵ ± ۰/۱۴ ^a	۲/۲۱ ± ۰/۰۸ ^g	پارا هیدروکسی متیل بنزوات
۱۶/۰۹ ± ۰/۰۱ ^b	۰/۴۰ ± ۰/۰۱ ^{abcd}	۶/۴۳ ± ۰/۰۱ ^b	۱/۷۹ ± ۰/۰۶ ^{fg}	۱۳/۵۲ ± ۰/۴۹ ^c	آلفا-توکوفرول

فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در امولسیون

بطور کلی، مکانیسم اکسایش چربی در سامانه‌های روغنی و امولسیونی متفاوت است (Frankel et al., 1994). محققان همواره بر این مسئله اتفاق نظر داشته‌اند که اکسایش در امولسیون‌ها پدیده پیچیده‌ای است و عوامل موثر بر آن پیچیده‌تر و متنوع‌تر هستند؛ قطرات روغن، بارالکتریکی امولسیون، نوع و اندازه امولسیفایر، رفتار امولسیفایر در فصل مشترک آب - روغن از جمله عوامل موثر بر واکنش‌های اکسایش چربی در امولسیون‌ها می‌باشند (Frankel et al., 1994; Hu et al., 2003; McClements & Decker, 2000).

محققان در بررسی پایداری اکسایشی امولسیون روغن ماهی در آب، در حضور سه امولسیفایر پروتئین ایزوله آب پنیر، کازئینات سدیم و پروتئین ایزوله سویا مشاهده کردند امولسیون حاوی پروتئین ایزوله سویا در مقایسه با دو امولسیفایر دیگر بیشترین پایداری اکسایشی را نشان داد. آنها علت این امر را قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد و توانایی غیرفعال‌سازی فلزات بیان کردند (Faraji et al., 2004). علاوه بر این، Patel و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند پروتئین سویا حاوی ایزوفلاوون است که در مهار رادیکال‌های پراکسیل موثر است. پایداری اکسایشی نمونه فاقد آنتی‌اکسیدان (شاهد) در سامانه امولسیونی نسبت به روغنی افزایش چشمگیری نشان داد (دوره القاء به ترتیب ۲/۱ و ۳۱/۳۳ ساعت). این افزایش پایداری احتمالاً به پروتئین ایزوله سویا ارتباط دارد. اثر ضد اکسایشی پروتئین ایزوله سویا با مهار رادیکال‌های آزاد توسط برخی اسیدهای آمینه و ایجاد لایه‌ی محافظ اطراف ذرات روغن اعمال می‌شود.

جدول ۵ نتایج آزمون پایداری اکسایشی امولسیون را نشان می‌دهد. در میان آنتی‌اکسیدان‌های مذکور آلفا-توکوفرول بیشترین افزایش را در IP ایجاد نمود و پس از آن به ترتیب، پاراهیدروکسی متیل بنزوات و اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک پایداری اکسایشی امولسیون را تحت تاثیر قرار دادند (دوره القاء به ترتیب ۶۵/۶۵، ۳۷/۶۳، ۳۳/۷ ساعت). پاراهیدروکسی متیل بنزوات در امولسیون عملکرد بهتری داشت (A=۱/۳) و تفاوت آماری معنی‌داری بین IP امولسیون حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام از این آنتی‌اکسیدان و نمونه شاهد مشاهده شد. این امر احتمالاً با قطبیت پائین (Log p = ۰/۸۷) آن مرتبط است (نتایج در جدول ۴ نشان داده شده است). بر طبق پدیده تناقض قطبی، خصوصیت آبگریزی، پاراهیدروکسی متیل بنزوات را به فصل مشترک آب- روغن سوق می‌دهد (Porter et al., 1989). این امر ممانعت از واکنش‌های اکسایش را به دنبال خواهد داشت. در تحقیق مشابهی Stöckmann و همکاران (۲۰۰۰) دریافتند فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشتقات اسید گالیک در سامانه امولسیونی با افزایش قطبیت کاهش می‌یابد، بطوری که دودسیل گالات (غیرقطبی‌ترین) بیشترین فعالیت را داشت در حالی که اسید گالیک اثر پروکسیدانی از خود نشان داد. رفتار آلفا-توکوفرول، علاوه بر قدرت مهارکنندگی نسبتاً خوبی (IC₅₀= ۱۰۵/۲۹) که دارد (جدول ۴) با استدلال مشابهی قابل توجه است؛ آلفا توکوفرول که قطبیت پائینی دارد (Log P=۲/۳) با قرارگیری در فصل مشترک آب- روغن و جهت یابی در آن منطقه، از پیشرفت اکسایش ممانعت به عمل می‌آورد.

جدول ۵- شاخص‌های سنتیکی (A: میزان فعالیت، ORR: نسبت سرعت اکسایش، F: کارایی، W_{inh}: سرعت اکسایش در دوره القاء در حضور آنتی-اکسیدان) و IP: دوره القاء (ساعت) امولسیون در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان.

شاخص‌های سنتیکی					
A	ORR	F	W _{inh}	IP	آنتی‌اکسیدان
-	-	-	۰/۲۳ ± ۰/۰۱ ^a	۳۱/۳۳ ± ۰/۲۴ ^c	شاهد
۱/۱ ± ۰/۰۱ ^b	۰/۹۷ ± ۰/۰۳ ^a	۱/۰۷ ± ۰/۰۴ ^b	۰/۲۳ ± ۰/۰۱ ^a	۳۳/۷ ± ۱/۵۳ ^{b,c}	اسید پارا هیدروکسی بنزوئیک
۱/۳ ± ۰/۱۹ ^b	۰/۹۳ ± ۰/۰۹ ^a	۱/۲ ± ۰/۰۴ ^b	۰/۲۲ ± ۰/۰۲ ^a	۳۷/۶۳ ± ۱/۵۳ ^b	پاراهیدروکسی متیل بنزوات
۳/۵۶ ± ۰/۵۲ ^a	۰/۶ ± ۰/۱۶ ^b	۲/۰۹ ± ۰/۱۵ ^a	۰/۱۳ ± ۰/۰۳ ^b	۶۵/۶۵ ± ۴/۹۱ ^a	آلفا-توکوفرول

منابع

Bountagkidou, O. G., Ordoudi, S. A., & Tsimidou, M. Z. (2010). Structure-antioxidant activity relationship study of natural hydroxybenzaldehydes using in vitro assays. *Food Research International*, 43(8), 2014-2019.

Diplock, A. T., Charlux, J.L., Willi, G.C., Kok, F.J., Evans, C.R., Roberfroid, M., Stahl, W., and Ribes, J.V. (1998). Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Journal of Nutrition*, 80, 77-112.

Duh, G. C. Y. n. A. P. D. (1994). Scavenging Effect of Methanolic Extracts of Peanut Hulls on Free-Radical and Active-Oxygen Species. *Journal of agricultural and food chemistry*.

Faraji, H., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2004). Role of continuous phase protein on the oxidative stability of fish oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(14), 4558-4564.

Farhoosh, R., & Hoseini-Yazdi, S.-Z. (2013). Shelf-life prediction of olive oils using empirical models developed at low and high temperatures. *Food Chemistry*, 141(1), 557-565.

- Fomuso, L. B., Corredig, M., & Akoh, C. C. (2002). Effect of emulsifier on oxidation properties of fish oil-based structured lipid emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 2957-2961.
- Frankel, E. N., Huang, S.-W., Kanner, J., & German, J. B. (1994). Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 42(5), 1054-1059.
- Frankel, E. N., Satué-Gracia, T., Meyer, A. S., & German, J. B. (2002). Oxidative stability of fish and algae oils containing long-chain polyunsaturated fatty acids in bulk and in oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(7), 2094-2099.
- Gordon, M. H., Paiva-Martins, F., & Almeida, M. (2001). Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(5), 2480-2485.
- Hu, M., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2003). Lipid oxidation in corn oil-in-water emulsions stabilized by casein, whey protein isolate, and soy protein isolate. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(6), 1696-1700.
- Jimenez-Alvarez, D., Giuffrida, F., Golay, P.A., Cotting, C., Lardeau, A., Keely, B.J. (2008). Antioxidant activity of oregano, parsley and olive mill wastewaters in bulk oils and oil in water emulsions enriched in fish oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16): 7151-7159.
- Maqsood, S., & Benjakul, S. (2010). Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. *Food Chemistry*, 119(1), 123-132.
- Marinova, E., & Yanishlieva, N. (1994). Effect of lipid unsaturation on the antioxidative activity of some phenolic acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(4), 427-434.
- McClements, D., & Decker, E. (2000). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. *Journal of Food Science*, 65(8), 1270-1282.
- Merkl, R., HRádkoVá, I., FIIIp, V., & ŠMIđRkal, J. (2010). Antimicrobial and antioxidant properties of phenolic acids alkyl esters. *Czech J Food Sci*, 28(4), 275-279.
- Pak, C. S. (2005). Stability and quality of fish oil during typical domestic application. Final Project. Wonsan University of fisheries Kangwon Province, *DPR of Korea*.
- Patel, R. P., Boersma, B. J., Crawford, J. H., Hogg, N., Kirk, M., Kalyanaraman, B., & Darley-USmar, V. (2001). Antioxidant mechanisms of isoflavones in lipid systems: paradoxical effects of peroxy radical scavenging. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(12), 1570-1581.
- Pazos, M., Gallardo, J. M., Torres, J.L., and Medina, I. (2005). Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry*, 92(3): 547-557.
- Porter, W. L., Black, E. D., & Drolet, A. M. (1989). Use of polyamide oxidative fluorescence test on lipid emulsions: contrast in relative effectiveness of antioxidants in bulk versus dispersed systems. *Journal of agricultural and food chemistry*, 37(3): 615-624.
- Shahidi, F. (2005). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 6 Volume Set. Chapter.
- Shantha, N. C., & Decker, E. A. (1993). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2), 421-424.
- Siger, A., nogala- kalucka, M., & lampart-szczapa E. (2008). The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*, 15(2), 137-149.
- Stöckmann, H., Schwarz, K., & Huynh-Ba, T. (2000). The influence of various emulsifiers on the partitioning and antioxidant activity of hydroxybenzoic acids and their derivatives in oil-in-water emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(5), 535-542.
- Wang, H., Liu, F., Yang, L., Zu, Y., Wang, H., Qu, S., & Zhang, Y. (2011). Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage. *Food Chemistry*, 128(1), 93-99.



Antioxidant activity of Para-hydroxybenzoic acid and its methyl ester in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion

N. Molaahmadibahraseman¹, R. Farhoosh^{2*}, A. Sharif³

Received: 2014.09.26

Accepted: 2015.04.23

Introduction: Medical benefits of Omega 3 fatty acids have appealed a lot of research to be done on of fish oil. Among marine fish, kilka has the most industrial application. Kilka oil contains significant amount of omega-3 fatty acids. In this study, physiochemical properties, fatty acid composition and stabilization of kilka oil were investigated. *p*-hydroxy benzoic acid, its methyl ester and alpha-tocopherol as control were compared to each other.

Materials and Methods: Crude Kilka fish oil was supplied by Khazar company (Babolsar, Iran). All chemicals and solvents used in this study were of analytical reagent grade and purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). 200 ppm of the mentioned antioxidants was added to the purified oil and kinetic regime of oxidation at temperatures of 35, 45 and 55°C was prepared. After monitoring the oxidation over time using peroxide test, graph of peroxide changes over time was plotted and induction period and kinetic parameters (F, ORR and A) were calculated. In order to compare the performance of antioxidants in oil and water, 10% emulsion of Kilka oil-in-water was prepared and 200 ppm of antioxidant was added to it and its oxidation process was monitored at 55°C.

Results and Discussion: Results showed that the fatty acid composition of this oil contains a variety of unsaturated fatty acids, saturated and polyunsaturated (mainly linoleic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids). Temperature had significant effect on oxidation. *p*-hydroxymethylbenzoate, a little more than *p*-hydroxybenzoic acid, could increase oxidative stability of oil. Alpha-tocopherol had better performance as compared with other antioxidants. Performance of methyl *p*-hydroxybenzoate was better in emulsion than oil. In general, the emulsifier and emulsion preparation as compared with antioxidant had a more prominent role in the oxidative stability of Kilka oil.

Keyword: Antioxidant, fish oil, benzoic acid, O/W emulsion

1, 2 and 3. Former Msc student, Professor and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.

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

بهینه‌یابی شرایط استخراج آبی بتاگلوکان از جو بدون پوشینه رقم لوت به روش سطح پاسخ

عبدالله همتیان سورکی^۱ - آرش کوچکی*^۲ - محمد الهی^۳ - سید محمد علی رضوی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۲۱

چکیده

در این پژوهش تاثیر شرایط استخراج شامل زمان، نسبت حلال به آرد جو و pH بر ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی، رفتار جریان، پایداری و مولسیون و رنگ بتاگلوکان استخراج شده از دانه جو بدون پوشینه رقم لوت توسط طرح مرکب مرکزی و به روش سطح پاسخ تعیین گردید. نتایج تجزیه و تحلیل آماری و ضرایب مدل‌ها نشان داد که مدت زمان استخراج، نسبت حلال به آرد جو و pH اثر معنی‌داری بر بازدهی و خلوص بتاگلوکان، پایداری کف و امولسیون، ضریب قوام (k)، شاخص رفتار جریان (n) و مولفه‌های رنگی L^* ، a^* و b^* داشت. افزایش زمان استخراج و نسبت حلال به آرد جو اثر مطلوبی بر بازدهی و خلوص بتاگلوکان استخراج شده گذاشت که این امر خود موجب بهبود خاصیت قوام‌دهندگی و ویژگی‌های رفتار جریان آن شد. از طرفی با افزایش قدرت قوام‌دهندگی بتاگلوکان، توانایی پایداری سیستم‌های کف و امولسیون نیز افزایش یافت. افزایش pH موجب کاهش بازدهی استخراج و افزایش خلوص بتاگلوکان گردید. بهترین شرایط استخراج زمانی حاصل شد که زمان استخراج ۹۰ دقیقه، نسبت حلال به آرد جو ۱۰ و ۱ و pH ۷/۳۳ بود. در این نقطه بهینه، بازدهی استخراج، ۴/۱۲ درصد؛ خلوص، ۶۹/۱۱ درصد؛ پایداری کف، ۸۶/۹۵ درصد؛ پایداری امولسیون، ۸۸/۷۷ درصد؛ ضریب قوام، $Pa.s^n$ ۱/۵۱؛ شاخص رفتار جریان، ۰/۶۲؛ L^* ، ۷۳/۴۲؛ a^* ، ۰/۸۱ و b^* ، ۸/۷۲ بود.

واژه‌های کلیدی: بتاگلوکان، جو بدون پوشینه، روش سطح پاسخ، رفتار جریان و پایداری امولسیون

مقدمه

بتاگلوکان‌ها گروهی از پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای هستند که از واحدهای گلوکز با پیوندهای بتا (۱→۴) (۷۰ درصد) و بتا (۱→۳) (۳۰ درصد) تشکیل شده‌اند. بتاگلوکان مهمترین فیبر محلول در آب موجود در دیواره سلولی برخی از دانه‌های غلات از جمله جو (۲/۵ - ۷ درصد)، یولاف (۲-۵ درصد) و گندم و چاودار (۲ درصد) است (Roman *et al.*, 2013). در بین غلات، جو و یولاف غنی‌ترین منابع بتاگلوکان می‌باشند که میزان آن در این غلات بسته به ویژگی‌های ژنتیکی (نوع رقم) و شرایط آب و هوایی متفاوت می‌باشد (Peterson, 1991). این ترکیب بر کاهش میزان کلسترول بد خون موثر است و باعث کاهش اندیس گلیسمیک خون می‌شود (Skendi *et al.*, 2003). به همین دلیل بتاگلوکان در گروه مواد غذایی عملگرا یا فراسودمند به‌عنوان فیبر رژیمی مطرح شده است. در برخی منابع بتاگلوکان را به دلیل ویژگی‌های رفتار جریان

محلول آن در فاز آبی به‌عنوان یک هیدروکلوئید مطرح می‌کنند (Vaikousi and Biliaderis, 2005؛ Burkus and Temelli, 2005؛ Hager *et al.*, 2011). محلول‌های حاوی بتاگلوکان به دلیل گرانیوی بالا و خاصیت هیدروکلوئیدی و جذب آب آزاد موجود در مواد غذایی می‌توانند به‌عنوان یک قوام‌دهنده در برخی محصولات غذایی از جمله سس‌ها، چاشنی‌های سالاد و بستنی بکار برده شوند (Wood and Webster, 1986؛ Dawkins and Kontogiorgos *et al.*, 1997؛ Nnanna, 1995؛ Temelli, 1997). بتاگلوکان علاوه بر قابلیت تغلیظ‌کنندگی می‌تواند در شرایط خاص تولید ژل نماید که از این ویژگی نیز می‌توان در صنعت غذا استفاده نمود (Ahmad *et al.*, 2010؛ امیری و همکاران، ۱۳۸۹). روش استخراج تاثیر چشمگیری بر ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی بتاگلوکان دارد. افزایش دما موجب افزایش بازدهی استخراج بتاگلوکان می‌گردد (امیری و همکاران، ۱۳۸۹). وزن مولکولی پلی‌ساکارید بتاگلوکان یک عامل موثر بر ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و گرانیوی آن می‌باشد (Ebringerova *et al.*, 2005). وزن مولکولی بتاگلوکان جو در محدوده ۱۲۶-۲۵۰۰ کیلودالتون است (Ebringerova؛ Beer *et al.*, 1997؛ Lazaridou *et al.*, 2004)

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار، استادیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.
* - نویسنده مسئول: (Email: koocheki@um.ac.ir)

پوشینه رقم لوت با حداکثر راندمان کیفی و کمی به شکلی که این روش ساده و کاربرد صنعتی نیز داشته باشد، مورد نیاز می‌باشد. بنابر دلایل مذکور هدف از این تحقیق، تعیین شرایط بهینه استخراج بتاگلوکان از دانه جو بدون پوشینه جهت دستیابی به بالاترین ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی و کیفیتی و معرفی این رقم جدید به‌عنوان یکی از مهمترین و پر بازده‌ترین منابع تولید بتاگلوکان به صنایع غذایی کشور می‌باشد.

مواد و روش‌ها

رقم لوت از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر با کد EH-83-7 تهیه و در سردخانه نگهداری شد. الکل مطلق (۹۹/۷ درصد) جهت استخراج از شرکت الکل زنجان تهیه گردید. کیت آنزیمی جهت اندازه‌گیری میزان بتاگلوکان از شرکت مگازیم (ایرلند) تهیه شد. آلبومین سفیده تخم مرغ، توئین ۸۰ و مواد شیمیایی مورد نیاز جهت استفاده در کیت آنزیمی بتاگلوکان شامل هیدروکسید سدیم، سدیم دی‌هیدروژن اورتوفسفات دی‌هیدرات، استیک اسید گلاسیال، سدیم آزید و اسید کلریدریک از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

استخراج بتاگلوکان

پیش از فرایند استخراج، دانه‌های جو بدون پوشینه توسط آسیاب آزمایشگاهی آرد شده و پس از الک کردن با مش ۱۰۰ جهت غیرفعال‌سازی آنزیم و همچنین حذف چربی، به مدت ۳ ساعت درون محلول الکل اتیلیک ۸۰ درصد (وزنی / وزنی) در دمای محیط همراه با همزدن و رفلاکس قرار گرفت. سپس نمونه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شد (Skendi *et al.*, 2003). استخراج بتاگلوکان با استفاده از آب داغ به روش Skendi و همکاران (۲۰۰۳) و Ahmad و همکاران (۲۰۰۹) با کمی تغییر مطابق با شکل ۱ انجام شد. متغیرها و سطوح استفاده شده جهت استخراج بتاگلوکان در جدول ۱ گزارش شده است. میزان بتاگلوکان به روش McCleary and Holmes (1985) و با استفاده از کیت آنزیمی (شرکت مگازیم، ایرلند) تعیین گردید.

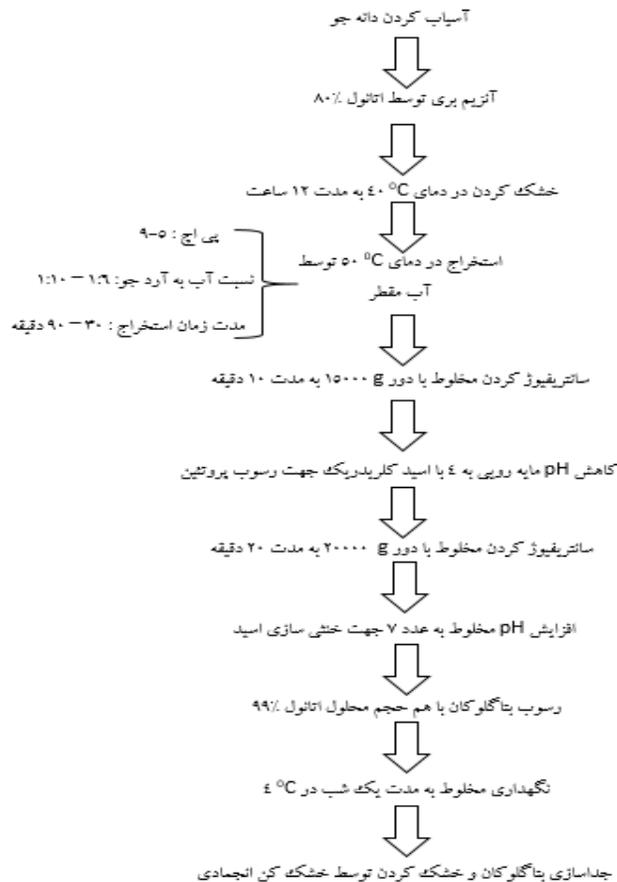
تهیه محلول بتاگلوکان

برای تهیه محلول، یک گرم بتاگلوکان درون ۱۰۰ گرم آب مقطر به آرامی و توسط همزن مغناطیسی در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد حل گردید. بمنظور جذب آب کامل بتاگلوکان، محلول به مدت یک شب در دمای یخچال نگهداری شد.

(Papageorgiou *et al.*, 2005 ; *et al.*, 2005). این تفاوت، به روش و شرایط استخراج بتاگلوکان بستگی دارد. به‌عنوان مثال، افزایش دمای استخراج باعث افزایش وزن مولکولی بتاگلوکان استخراج شده می‌شود (Zhang *et al.*, 1998 ; 1998). نتایج تحقیق Temelli (1997)؛ Izydorczyk *et al.*، نشان داد که با افزایش دمای استخراج، میزان گرانروی محلول بتاگلوکان افزایش می‌یابد. این محقق دلیل این افزایش گرانروی را به افزایش میزان بتاگلوکان و نشاسته استخراج شده در دماهای بالا نسبت داده است.

یکی دیگر از پارامترهای موثر بر ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی بتاگلوکان، pH محیط استخراج آن می‌باشد. نتایج تحقیق Temelli (۱۹۹۷) نشان داد که با افزایش pH تا ۹، ویسکوزیته ظاهری افزایش می‌یابد. این محقق دلیل این افزایش ویسکوزیته را افزایش میزان بتاگلوکان استخراج شده در pH بالا بیان نمود. نتایج پژوهش (Burkus and Temelli, 1998) نیز نشان داد که ویسکوزیته ظاهری بتاگلوکان استخراج شده در pH ۹ نسبت به pH های پایین‌تر، بیشتر بوده و پایداری بیشتری در مقابل افزایش درجه برش داشت. این در حالی است که برخی محققان نتایجی بر خلاف این نظر ارائه کرده‌اند. نتایج این پژوهش‌ها نشان می‌دهد که استخراج بتاگلوکان در محیط‌های قلیایی باعث دپلمریزه شدن نسبی زنجیره خطی بتاگلوکان شده که این امر وزن مولکولی و ویسکوزیته ظاهری بتاگلوکان را کاهش می‌دهد (Carr *et al.*, 1990 ; Beer *et al.*, 1997 ; 1997 ; Knuckles *et al.*, 1997 ; Brennan and Cleary., 2005 ; Ahmad *et al.*, 2009).

جو بدون پوشینه یکی از ارقام دانه جو می‌باشد که به دلیل ساختار فنوتیپی آن (عدم وجود پوشش سخت اطراف دانه)، کاربرد تکنولوژیکی زیادی دارد. تحقیقات نشان داده است که میزان فیبرهای محلول لاین‌های جو بدون پوشینه نسبت به جو معمولی بیشتر می‌باشد. بطور متوسط ۴/۵ درصد وزن ماده خشک این نوع جو، بتاگلوکان می‌باشد که بیشتر از گندم و چاودار است (Storsley *et al.*, 2003). دانه جو بدون پوشینه رقم لوت اولین رقم جو بدون پوشینه تجاری در کشور می‌باشد که در سال ۱۳۹۲ توسط موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج معرفی و به ثبت رسیده است. تا کنون هیچ گونه پژوهشی بر روی خصوصیات و ویژگی‌های اجزای این رقم جو، از جمله بتاگلوکان انجام نشده است. از طرف دیگر بتاگلوکان به دلیل دارا بودن ویژگی‌های هیدروکلوئیدی و خواص تغذیه‌ای فراوان می‌تواند به‌عنوان یک فیبر هیدروکلوئیدی-رژیمی مورد پژوهش و بررسی قرار گیرد (Skendi *et al.*, 2003). با توجه به ویژگی‌های تغذیه‌ای و تکنولوژیکی بالای بتاگلوکان، بنظر می‌رسد تعیین یک روش بهینه جهت استخراج آن از جو بدون



شکل ۱- مراحل استخراج بتاگلوکان به روش آب داغ

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رفتار جریان بتاگلوکان

ویژگی‌های رنگی بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج هانتربل (مدل Color Flex, 45 Reston VA، آمریکا) پس از خشک کردن و آسیاب کردن نمونه تعیین گردید. ۲ گرم از نمونه آسیاب شده درون سل دستگاه ریخته شد، سپس پوشش سل بر روی آن قرار گرفت و فاکتورهای L^* ، a^* و b^* توسط نرم‌افزار دستگاه تعیین گردید. مؤلفه L^* معادل روشنایی تصویر نمونه است که ۰ معادل مشکی و ۱۰۰ معادل انعکاس کامل نور می‌باشد.

مؤلفه a^* نامحدود بوده و مقادیر مثبت معادل رنگ قرمز و مقادیر منفی آن معادل رنگ سبز می‌باشد. مؤلفه b^* نیز نامحدود بوده و مقادیر مثبت آن معادل رنگ زرد و مقادیر منفی معادل رنگ آبی می‌باشد (افشاری جویباری و فرحناکی، ۱۳۸۸).

رفتار جریان محلول بتاگلوکان با استفاده از دستگاه ویسکومتر چرخشی بروکفیلد (مدل آر وی دی وی III، آمریکا) مجهز به

سیرکولاتور حرارتی تعیین شد. در این آزمون پس از انجام پیش آزمون، با توجه به گشتاور ایجاد شده برای نمونه طبق دستورالعمل دستگاه اسپیندل SC4-18 انتخاب شد.

۶/۷ میلی لیتر از نمونه داخل ظرف نمونه شماره SC4-13R (P) متصل به سیرکولاتور حرارتی ریخته شد. نمونه به مدت ۲۰ دقیقه درون ظرف قرار گرفت تا دمای نمونه بر روی ۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت شود. تمامی آزمون‌ها در دامنه درجه برش ۱ تا s^{-1} انجام شد که طبق دستورالعمل دستگاه برای این اسپیندل، جهت تبدیل مقادیر سرعت چرخشی (r.p.m) به درجه برش از ضریب ۱/۳۲ استفاده شد.

بمنظور برازش داده‌ها از مدل قانون توان استفاده شد.

$$\tau = k \gamma^n \quad (1)$$

که در این مدل τ نیروی برش، γ درجه برش، k ضریب قوام و

n شاخص رفتار جریان می‌باشد

برای تعیین قدرت پایداری کف، محلول ۱ درصد (وزنی/وزنی)

دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از آن توسط سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰g سانتریفیوژ گردید. در نهایت ارتفاع امولسیون باقیمانده از روی لوله آزمایش اندازه‌گیری شد و قدرت پایداری امولسیون از رابطه زیر تعیین گردید:

$$(3) \quad 100 \times (v_1 - v_0) / v_0 = \text{پایداری امولسیون (درصد)}$$

که در این معادله v_0 و v_1 به ترتیب ارتفاع اولیه و نهایی امولسیون بود.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج بتاگلوکان از دانه جو بدون پوشینه رقم لوت از روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی با پنج تکرار در نقطه مرکزی با استفاده از نرم‌افزار Design Expert (نسخه ۷.۰.۰) انجام گردید. متغیرهای مستقل شامل زمان، pH محلول و نسبت حلال (آب مقطر) به آرد جو در سه سطح مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است.

آلبومین در آب مقطر تهیه گردید. سپس ۱۰ گرم از محلول حاوی بتاگلوکان به محلول حاوی آلبومین اضافه شد. محلول به مدت ۲ دقیقه با دستگاه اولتراتوراکس (مدل تی-۲۵ دیجیتال، شرکت آی کی ای آلمان) با دور ۱۰۰۰۰rpm هم‌زده شد.

پایداری کف پس از ۱۲۰ دقیقه، به روش شکرالهی (۱۳۹۲) و با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد:

$$(2) \quad 100 \times (v_2 - v_1) / (v_1 - v_0) = \text{پایداری کف (درصد)}$$

که در این معادله v_0 ارتفاع اولیه محلول، v_1 ارتفاع کف بلافاصله پس از هم‌زدن با توراکس و v_2 ارتفاع کف پس از ۱۲۰ دقیقه بود.

برای تعیین قدرت پایداری امولسیون ابتدا محلول نیم درصد بتاگلوکان به روش ذکر شده تهیه گردید. ۲۰ گرم روغن مایع ذرت به ظرف نمونه اضافه شد. توئین ۸۰ به میزان ۰/۱ درصد (وزنی/وزنی) به‌عنوان امولسیفایر به مخلوط اضافه گردید. سپس مخلوط به مدت ۲ دقیقه توسط دستگاه اولتراتوراکس با دور ۱۰۰۰۰rpm هم‌زده و درون لوله آزمایش ریخته شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰

جدول ۱- متغیرها و سطوح استفاده شده در طرح مرکب مرکزی جهت استخراج بتاگلوکان به روش آب داغ.

شماره آزمون	زمان (دقیقه)	نسبت حلال به آرد جو	pH
۱	۶۰	۸	۷
۲	۶۰	۸	۷
۳	۶۰	۸	۷
۴	۳۰	۸	۷
۵	۹۰	۸	۷
۶	۶۰	۸	۷
۷	۹۰	۶	۵
۸	۳۰	۶	۹
۹	۶۰	۸	۷
۱۰	۹۰	۱۰	۹
۱۱	۶۰	۶	۷
۱۲	۳۰	۱۰	۵
۱۳	۳۰	۶	۵
۱۴	۶۰	۱۰	۷
۱۵	۹۰	۶	۹
۱۶	۳۰	۱۰	۹
۱۷	۹۰	۱۰	۵
۱۸	۶۰	۸	۹
۱۹	۶۰	۸	۷
۲۰	۶۰	۸	۵

نتایج و بحث

بازدهی استخراج بتاگلوکان از دو رقم جو واکسی افزایش یافت

بازدهی استخراج و خلوص بتاگلوکان

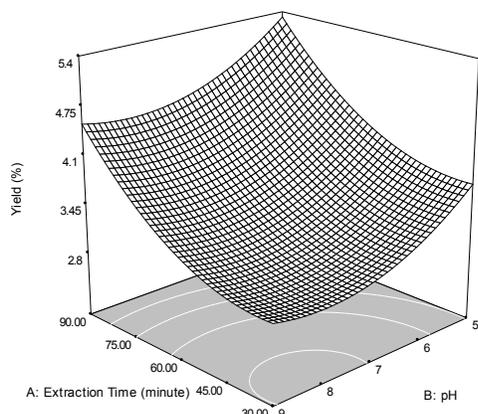
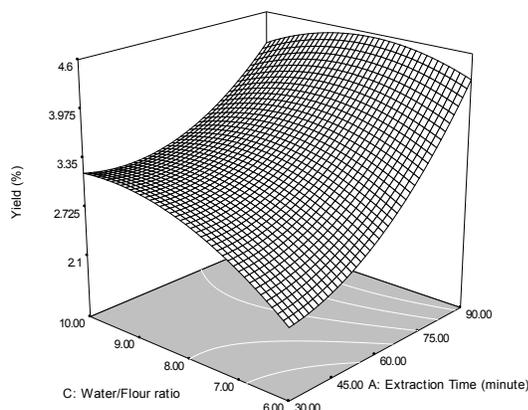
نتایج نشان داد که اثر خطی فاکتورهای مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو از نظر آماری تاثیر معنی‌داری بر بازدهی استخراج بتاگلوکان داشت ($p < 0.01$).

که با توجه به میزان مجموع مربعات، زمان استخراج بیشترین اهمیت را در میزان بازدهی داشته است (جدول ۲). علاوه بر اثر خطی، اثر درجه دوم فاکتورهای مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو بر بازدهی روش استخراج معنی‌دار بود ($p < 0.05$). از بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل زمان و نسبت حلال از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.01$) (جدول ۲).

تغییرات بازدهی استخراج بتاگلوکان نسبت به مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو در شکل ۲ نشان داده شده است. با افزایش مدت زمان استخراج، میزان بازدهی بتاگلوکان استخراج شده افزایش یافت. با افزایش زمان استخراج، آب به عنوان حلال فرصت کافی برای نفوذ هرچه بیشتر درون ذرات آرد جو را یافته و می‌تواند مقادیر بیشتری ترکیبات محلول در آب از جمله بتاگلوکان را خارج نماید (Shi et al., 1996). نتایج تحقیق سایر محققان نیز نشان داد که افزایش زمان استخراج در کنار حرارت‌دهی تاثیر بسزایی بر افزایش سرعت خروج پلی‌ساکاریدهای محلول در آب از دیواره سلولی بافت‌های گیاهی دارد (Wu et al., 1996؛ Shi et al., 2007 و Koocheki et al., 2009).

با کاهش pH، میزان بازدهی استخراج بتاگلوکان افزایش یافت که مطابق با نتایج Temelli (۱۹۹۷) و Ahmad و همکاران (۲۰۰۹) بود. این افزایش می‌تواند به دلیل اثر pH‌های پایین در شکستن پلی‌ساکاریدها و فیبرهای نامحلول و تبدیل آن‌ها به اجزای کوچک‌تر و محلول در آب باشد که خود باعث افزایش بازدهی استخراج می‌گردد (Temelli, 1997). امیری و همکاران گزارش نمودند که با کاهش pH، میزان ورود ناخالصی‌هایی مانند نشاسته و مواد معدنی به بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه افزایش می‌یابد. افزایش این ناخالصی‌ها می‌تواند موجب افزایش بازدهی استخراج گردد (امیری و همکاران، ۱۳۸۹).

افزایش نسبت حلال به آرد جو نیز باعث افزایش بازدهی استخراج گردید (شکل ۲). با افزایش نسبت حلال به آرد جو، گرانبوی محلول کاهش می‌یابد لذا ورود مواد جامد محلول از جمله بتاگلوکان به درون محلول افزایش می‌یابد (Koocheki et al., 2009). با توجه به قانون انتشار، با کاهش نسبت مواد جامد در محلول، میزان ورود مواد جامد محلول به سیستم آرد جو- حلال نیز افزایش می‌یابد (Fennema, 1996). نتایج تحقیق Roman و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان داد که با افزایش نسبت حلال به آرد جو،



شکل ۲- اثر مدت زمان استخراج، pH، و نسبت حلال به آرد جو (الف: نسبت حلال به آرد جو = ۱:۸ و ب: pH = ۷) بر بازدهی استخراج بتاگلوکان از جو بدون پوشینه

برای تعیین میزان ناخالصی‌های موجود در بتاگلوکان استخراج شده و تعیین کارایی اثر فرایندهای اعمال شده بر استخراج بتاگلوکان، خلوص بتاگلوکان اندازه‌گیری گردید. اثر خطی هر سه پارامتر مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو اثر معنی‌داری بر خلوص بتاگلوکان داشت (جدول ۲). اثرات متقابل و درجه دوم هیچ یک از متغیرهای مستقل معنی‌دار نبود (جدول ۲). شکل ۳ تغییرات خلوص بتاگلوکان نسبت به مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو را نشان می‌دهد. با افزایش مدت زمان

یافت (شکل ۳). این امر احتمالاً به این دلیل است که در نسبت‌های پایین، با ورود بتاگلوکان و سایر ناخالصی‌ها از جمله نشاسته به داخل آب، گرانشی محلول افزایش یافته و حلال آزاد کمتری جهت نفوذ به داخل ذرات آرد و استخراج بتاگلوکان وجود خواهد داشت. بنابراین، میزان خلوص بتاگلوکان در ترکیب استخراج شده کاهش می‌یابد. در حالیکه در نسبت‌های بالای حلال، هم گرانشی محلول پایین بوده و ذرات به راحتی در درون حلال حرکت می‌کنند و هم میزان حلال آزاد بیشتری برای استخراج بتاگلوکان وجود خواهد داشت.

با کاهش pH، میزان خلوص بتاگلوکان کاهش یافت (شکل ۳ ب). همانطور که در بخش بازده ذکر شد در pHهای پایین سرعت هیدرولیز و شکسته شدن پلی‌ساکاریدها و فیبرهای نامحلول و تبدیل آنها به ترکیبات کوچکتر و محلول در آب افزایش می‌یابد که این مواد می‌توانند به‌عنوان ناخالصی وارد بتاگلوکان شده و خلوص آن را کاهش دهند (Temelli, 1997). امیری و همکاران گزارش نمودند که با کاهش pH، در اثر ورود ناخالصی‌هایی مانند نشاسته و مواد معدنی به بتاگلوکان استخراج شده خلوص بتاگلوکان کاهش یافت (امیری و همکاران، ۱۳۸۹).

استخراج خلوص بتاگلوکان افزایش یافت (شکل ۳، الف). بتاگلوکان در داخل دیواره سلولی سلول‌های اندوسپرم قرار گرفته است و نسبت به سایر ترکیبات محلول در آب با سرعت کمتری خارج می‌شود. بنابراین، در زمان‌های اولیه استخراج، ناخالصی‌هایی مانند سایر پلی‌ساکاریدهای محلول در آب، نشاسته، پروتئین‌ها و ... همراه با بتاگلوکان خارج می‌گردند (Kulp, 2000 و Roman et al., 2011). به تدریج با افزایش زمان استخراج و نفوذ هرچه بیشتر آب به عنوان حلال به درون ذرات آرد جو، بتاگلوکان بیشتری در آب حل شده و وارد سیستم می‌گردد. در نتیجه، غلظت بتاگلوکان نسبت به سایر ترکیبات افزایش یافته که باعث افزایش خلوص بتاگلوکان در ترکیب نهایی می‌شود (Roman et al., 2011). از همین رو Roman و همکاران (۲۰۱۱) معتقد هستند که مهم‌ترین عوامل برای استخراج بتاگلوکان اندازه ذرات آرد جو، سرعت همزدن و مدت زمان استخراج می‌باشد. نتایج تحقیق Morgan و Ofman (۱۹۹۸) نشان داد که با افزایش مدت زمان استخراج در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، خلوص بتاگلوکان افزایش یافت. با افزایش نسبت حلال به آرد جو، خلوص بتاگلوکان افزایش

جدول ۲- ضرایب رگرسیون و تجزیه و تحلیل واریانس برای ویژگی‌های بتاگلوکان استخراج شده به روش آب داغ

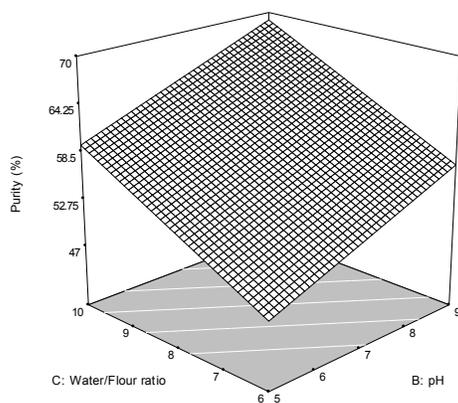
منبع	بازدهی (درصد)			خلوص (درصد)			پایداری کف (درصد)			پایداری امولسیون (درصد)		
	P-Value	SS	Coefficient	P-Value	SS	Coefficient	P-Value	SS	Coefficient	P-Value	SS	Coefficient
مدل خطی	<۰/۰۰۰۱	۱۰/۳۳	۱/۳۰۵	<۰/۰۰۰۱	۷۵۱/۱۰	۹/۵۲۰	<۰/۰۰۰۱	۲۳۷۸/۰۵	-۸۴/۵۲۰	<۰/۰۰۰۱	۲۰۳۱/۳۰	۲/۰۸۳
A	<۰/۰۰۰۱	۶/۰۱	۰/۰۰۵	<۰/۰۰۱۰	۱۶۶/۳۸	۰/۱۵۶	<۰/۰۰۲۰	۱۴۹/۵۶	۰/۱۲۹	۰/۰۰۰۲	-	-
B	<۰/۰۰۰۱	۱/۵۹	-۱/۵۲۹	<۰/۰۰۰۳	۲۲۷/۸۵	۲/۳۸۷	<۰/۰۰۰۱	۱۲۸۰/۹۰	۱۳/۲۶۲	۰/۰۰۰۲	۱۰۹۷/۷۱	۵/۲۳۸
C	۰/۰۰۲۷	۰/۵۱	۱/۶۷۴	<۰/۰۰۰۱	۲۵۶/۸۷	۲/۹۸۶	<۰/۰۰۰۱	۱۷۳۲/۲۵	۱۳/۲۳۳	۰/۰۰۰۴	۹۳۳/۵۹	۴/۸۳۱
درجه دوم												
AA	۰/۰۰۲۷	۰/۵۱	۰/۰۰۰۴	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-
BB	۰/۰۰۶۲	۰/۴	۰/۰۰۹۵	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-
CC	۰/۰۱۶۱	۰/۲۸	-۰/۰۸۰	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-
اثر متقابل												
AB	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-
AC	۰/۰۰۱۴	۰/۶۲	-۰/۰۰۴۶	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-
BC	ns	-	-	ns	-	-	ns	۱۱۵/۶۳	-۰/۰۹۵۰	۰/۰۰۵۱	-	-
Lack of fit	۰/۸۷۷۴ ns	۰/۱۵		۰/۵۶۸۱	۱۱۲/۵۴		۰/۱۸۲ ^{ns}	۱۳۲/۸۲		۰/۸۶۴ ^{ns}	۴۳۸/۰۵	
R ²			۰/۹۶۰			۰/۸۱۸			۰/۹۵۳			۰/۷۱۲
Adj-R ²			۰/۹۳۶			۰/۷۸۴			۰/۹۴۰			۰/۶۷۸
CV			۵/۳۰			۵/۵۴			۴/۷۷			۸/۹۸

ns: بی معنی در < ۰/۰۵؛ A: مدت زمان استخراج؛ B: pH؛ C: نسبت حلال به آرد جو؛ CV: ضریب تغییرات؛ SS: مجموع مربعات

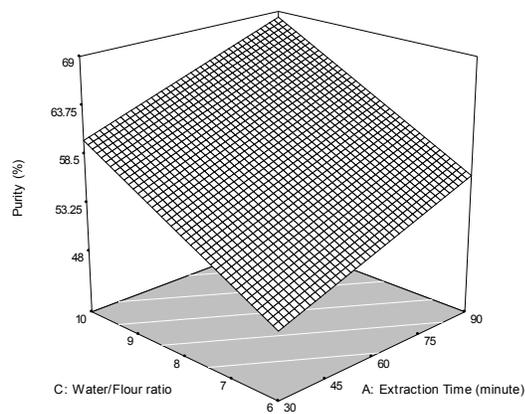
ادامه جدول ۲

b*		a*			L*			K			n			منبع	
p-Value	SS	Coefficient	p-Value	SS	Coefficient	p-Value	SS	Coefficient	p-Value	SS	Coefficient	P-Value	SS	Coefficient	
<./...>	۵۴/۴۳	-/۱۷۶	<./...>	۴/...>	-/۱۸۱۸	<./...>	۲۳۰۶/۸۵	۷۳/۷۹۹	<./...>	۵/۴۴	۴/۱۱۰	<./...>	/۱۷	۷/۴۲۲	مدل خطی
ns	-	-	ns	-	-	<./...>	۱۹۸/۹۲	-/۳۵۹	Ns	-	-	ns	-	-	A
<./...>	۵۴/۴۳	۷/۱۶۶	<./...>	۴/...>	-/۲۲۳	<./...>	۱۹۷۴/۷۳	۸/۳۱۹	<./...>	۷/۸۷	-/۰۵۸	/...۵	/۰۸۳	-/۰۴۵	B
ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	<./...>	۲/۸۸	-/۷۲۹۶	/...۵	/۰۸۵	-/۰۴۶	C
درجه دوم															
ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	AA
ns	-	-	ns	-	-	/...۶	۱۰۳/۲۴	-/۹۹۹	ns	-	-	ns	-	-	BB
ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	<./...>	-/۵۵	-/۰۸۳	ns	-	-	CC
اثر متقابل															
ns	-	-	ns	-	-	/...۳۶	۲۹/۷۶	-/۰۳۲	ns	-	-	ns	-	-	AB
ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	AC
ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	/...۲۰	-/۱۵	-/۰۳۴	ns	-	-	BC
ns	۱۷/۳۹	-	ns	-/۲۲	-	ns	۶۸/۴۷	-/...۵۱۰	-/۱۲	-	-	/...۲۹	/...۳۰	-	Lack of fit
		-/۷۰۰			-/۸۶۰			-/۹۶۵			-/۹۷۱			-/۶۸۳	R ²
		-/۶۸۲			-/۸۵۲			-/۹۵۶			-/۹۶۳			-/۶۴۵	Adj-R ²
	۱۳/۶۸				۱۸/۰۱			۳/۰۰			۱۴/۵۶			۹/۲۲	CV

ns: بی معنی در <./...>؛ A: مدت زمان استخراج؛ B: pH؛ C: نسبت حلال به آرد جو؛ CV: ضریب تغییرات؛ SS: مجموع مربعات



ب



الف

شکل ۳- اثر مدت زمان استخراج، pH، و نسبت حالا به آرد جو (الف: pH=۷ و ب: زمان= ۶۰ دقیقه) بر خلوص بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه

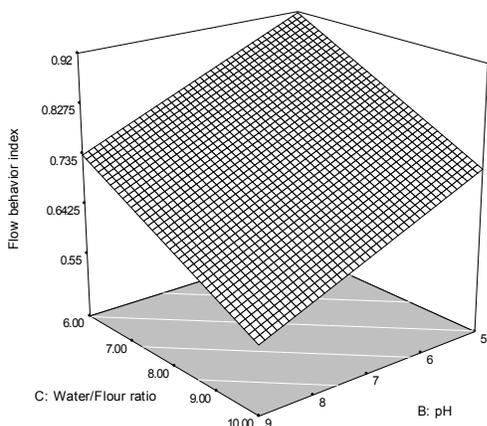
(Burkus and Temelli, 1998 and 2005; Bhattay, 1995)؛ امیری و همکاران، 2003؛ Sirghie et al., 2003؛ Ghotra et al., 2009؛ ۱۳۸۹). با برازش داده‌های مربوط به تنش برشی در مقابل درجه برش توسط مدل قانون توان، اثر مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو بر مقادیر ضریب قوام (k) و شاخص رفتار جریان (n)

رفتار جریان محلول بتاگلوکان

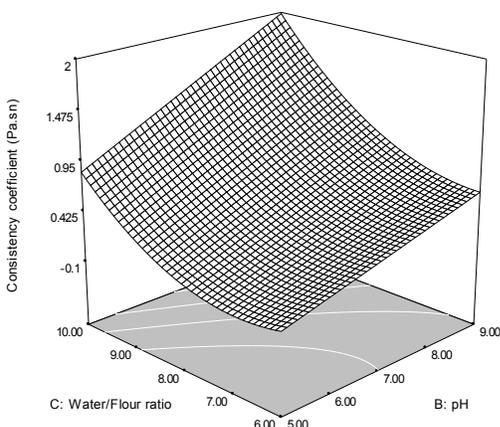
به دلیل اینکه مدل قانون توان مقادیر R² بالا و RMSE پایینی داشت (داده‌ها نمایش داده نشده است)، این مدل جهت برازش داده‌ها انتخاب گردید. تحقیقات بسیاری پیش از این انجام شده است که استفاده از مدل قانون توان برای بتاگلوکان را پیشنهاد می‌دهد

بود ($p < 0.01$).

با کاهش pH از ۹ به ۵، ضریب قوام کاهش یافت. دلیل این کاهش را می‌توان به اثر pH های پایین بر هیدرولیز اسیدی بتاگلوکان و کاهش وزن مولکولی آن نسبت داد. با کاهش وزن مولکولی بتاگلوکان ویسکوزیته ظاهری و ضریب قوام آن کاهش می‌یابد (Temelli, 1997).



شکل ۴- اثر pH و نسبت حلال به آرد جو (زمان = ۶۰ دقیقه) بر تغییرات شاخص رفتار جریان بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه



شکل ۵- اثر pH و نسبت حلال به آرد جو (زمان = ۶۰ دقیقه) بر تغییرات ضریب قوام بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه

محلول ۱ درصد (وزنی/وزنی) بتاگلوکان تعیین گردید.

در جدول ۲ ضرایب رگرسیون برای مدل‌های چند جمله‌ای خطی و درجه دوم ضریب قوام و شاخص رفتار جریان بتاگلوکان نشان داده شده است. در بین اثرات خطی، اثر نسبت حلال به آرد جو و pH بر شاخص رفتار جریان (n) معنی‌دار بود. مدت زمان استخراج اثر معنی‌داری بر شاخص رفتار جریان بتاگلوکان نداشت. معمولاً کاهش شاخص رفتار جریان، به دلیل اثر آنزیم‌های طبیعی موجود در آرد جو می‌باشد (Morgan and Ofman, 1998).

در این پژوهش آرد جو قبل از استخراج، توسط الکل آنزیم‌بری شد. بنابراین، مدت زمان استخراج تأثیری بر شاخص رفتار جریان نداشت. اثرات متقابل و درجه دوم هیچ یک از متغیرهای مستقل معنی‌دار نبود. با توجه به مجموع مربعات مربوط به هر یک از متغیرهای مستقل نسبت حلال به آرد جو بیشترین تأثیر بر میزان شاخص رفتار جریان را داشته است.

با افزایش نسبت حلال به آرد جو از ۱:۶ به ۱:۱۰، شاخص رفتار جریان کاهش یافت (شکل ۴).

با توجه به دامنه مقادیر شاخص جریان ($n < 1$) سیال حاوی بتاگلوکان یک سیال غیرنیوتنی بوده و رفتاری سودوپلاستیک از خود نشان داد. از همین رو کاهش شاخص رفتار جریان در مقابل افزایش نسبت حلال به آرد جو نشان‌دهنده افزایش خلوص بتاگلوکان و در نتیجه افزایش برهمکنش بین پلی‌ساکاریدهای بتاگلوکان و مولکول‌های سیال حاوی آن می‌باشد (Launay et al., 1986). با کاهش pH، مقادیر شاخص رفتار جریان افزایش یافت. نتایج تحقیق Temelli (۱۹۹۷) نیز نشان داد با کاهش pH، شاخص رفتار جریان سیال حاوی بتاگلوکان افزایش یافت و در واقع سودوپلاستیته محلول بتاگلوکان کاهش یافت.

مقادیر ضریب قوام محلول ۱ درصد بتاگلوکان در شرایط مختلف استخراج بین 0.35 تا 2.46 Pa.s متغیر بود (شکل ۵).

اثر خطی pH و نسبت حلال به آرد جو اثر معنی‌داری ($p < 0.0001$) بر میزان ضریب قوام داشت. تغییرات ضریب قوام نسبت به pH و نسبت حلال به آرد جو در شکل ۵ نشان داده شده است. ضریب قوام با افزایش نسبت حلال به آرد جو بصورت نمایی افزایش یافت.

همانطور که عنوان شد، با افزایش نسبت حلال به آرد جو خلوص بتاگلوکان افزایش یافت. افزایش خلوص بتاگلوکان موجب افزایش ویسکوزیته آن می‌شود (Burkus and Temelli, 1998). بنابراین، افزایش نسبت حلال به آب بصورت غیرمستقیم موجب افزایش ضریب قوام می‌گردد. نسبت حلال به آرد جو علاوه بر اثر خطی بصورت درجه دوم نیز ($p < 0.0001$) اثر معنی‌داری بر ضریب قوام سیال حاوی بتاگلوکان داشت (جدول ۲). از بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل pH و نسبت حلال به آرد جو بر ضریب قوام معنی‌دار

اغلب هیدروکلوئیدها می‌توانند به‌عنوان پایدارکننده امولسیون‌های روغن در آب عمل کنند اما تعداد اندکی از آنها نقش امولسیفایری دارند (Dickinson, 2009). بتاگلوکان جو قابلیت پایداری امولسیون را دارد (Temelli, 1997). بتاگلوکان جو فاقد قسمت‌های آبریز می‌باشد. بنابراین، یک امولسیفایر واقعی نیست بلکه می‌تواند با افزایش گرانیوی فاز آبی محلول‌های دیسپرسیون از بهم پیوستن قطرات روغن جلوگیری نموده و باعث پایدار شدن سیستم‌های امولسیونی شود (Temelli, 1997).

مدت زمان استخراج اثر معنی‌داری بر ضریب قوام بتاگلوکان نداشت (جدول ۲). این درحالی است که Ofman و Morgan (۱۹۹۸) گزارش نمودند که با افزایش مدت زمان استخراج، ویسکوزیته ظاهری بتاگلوکان کاهش می‌یابد. نامبردگان این امر را به اثر آنزیم‌های طبیعی موجود در آرد جو نسبت دادند که باعث شکستن بتاگلوکان و کاهش وزن مولکولی آن می‌گردد. بنابراین، از آنجا که در آزمون اخیر یک مرحله آنزیم‌بری انجام شده است، لذا مدت زمان استخراج تاثیری بر ضریب قوام نداشت.

پایداری کف و امولسیون

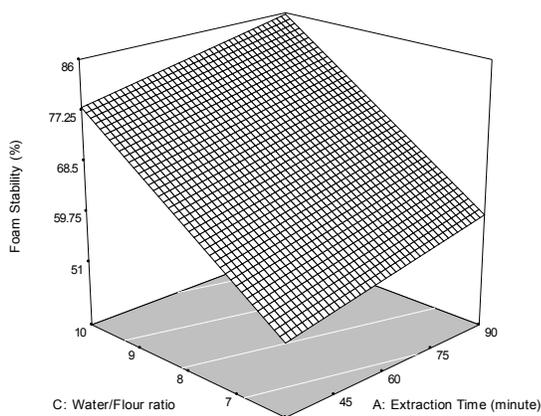
نتایج نشان داد که اثر خطی مدت زمان استخراج ($p < 0.001$)، pH و نسبت حلال به آرد جو ($p < 0.001$) بر توانایی پایدارکنندگی کف بتاگلوکان معنی‌دار بود (جدول ۲). از بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل pH و نسبت حلال به آرد بر پایداری کف معنی‌دار بود ($p < 0.01$). بر اساس جدول ۲ از نظر اهمیت متغیرهای موثر بر پایداری کف به ترتیب نسبت حلال به آرد جو، pH و مدت زمان استخراج بود.

برخی از پژوهشگران معتقدند که توانایی پایداری کف توسط بتاگلوکان به دلیل افزایش گرانیوی فاز آبی توسط این هیدروکلوئید می‌باشد (Kontogiorgos *et al.*, 2004; Temelli, 1997). این افزایش گرانیوی فاز آبی باعث جلوگیری از اتصال حباب‌های هوا و بزرگ شدن و در نتیجه از هم پاشیدن آنها می‌شود. با افزایش نسبت حلال به آرد جو توانایی پایدارکنندگی کف بتاگلوکان افزایش یافت (شکل ۶).

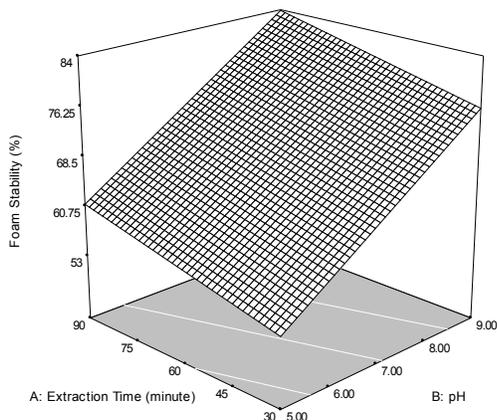
افزایش نسبت حلال به آرد جو باعث افزایش خلوص بتاگلوکان شده در نتیجه این ترکیب احتمالاً خاصیت قوام‌دهندگی بیشتری خواهد داشت لذا با افزایش گرانیوی محلول پایداری کف نیز افزایش خواهد یافت.

یکی از عوامل موثر در تشکیل کف و پایداری آن پروتئین‌های محلول در آب می‌باشد (جهانیان و همکاران، ۱۳۸۳).

پروتئین‌ها از طرفی به‌عنوان عامل فعال سطحی، کشش سطحی بین مایع و هوا را کاهش می‌دهد و از طرف دیگر در اثر ایجاد فیلم چسبنده در سطح میانی، سبب پایداری حباب می‌شوند (جهانیان و همکاران، ۱۳۸۳). در محدوده pH‌های بالا پروتئین‌ها کمتر تحت تاثیر قرار گرفته و میزان آنها در بتاگلوکان استخراج شده بیشتر خواهد بود. لذا افزایش توانایی پایداری کف با افزایش pH در شکل ۶ را می‌توان به دلیل وجود مقادیر بالاتر پروتئین در این ترکیب دانست. نتایج تحقق امیری و همکاران (۱۳۸۹) نشان داد که بتاگلوکان استخراج شده در محدوده pH اسیدی میزان پروتئین کمتری نسبت به pH بالاتر دارد.



الف



ب

شکل ۶- اثر مدت زمان استخراج، pH، و نسبت حلال به آرد جو (الف: pH=۷ و ب: نسبت حلال به آرد جو=۱:۸) بر پایداری کف بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه

بتاگلوکان به دلیل اینکه می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی (قوام‌دهنده) در مواد غذایی استفاده شود، لذا تیره‌گی و یا روشنی رنگ آن بسیار مهم می‌باشد. با افزایش مدت زمان استخراج از ۳۰ به ۹۰ دقیقه میزان L^* کاهش یافت که نشان‌دهنده تیره‌تر شدن رنگ بتاگلوکان می‌باشد (شکل ۸). در واقع با افزایش زمان استخراج فرصت کافی برای انجام واکنش‌های شیمیایی از جمله واکنش‌های قهوه‌ای شدن ایجاد می‌گردد (Temelli, 1997). لذا با افزایش مدت زمان استخراج رنگ محصول تیره‌تر و نامطلوب‌تر می‌شود.

اثر خطی pH بر تغییرات مؤلفه L^* به شدت معنی‌دار بود ($p < 0.001$). افزایش pH باعث کاهش مؤلفه L^* شد. یکی از عوامل موثر بر واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی مایلارد، pH محیط می‌باشد. با افزایش pH محیط، واکنش‌های مایلارد به شدت افزایش می‌یابد (Fennema, 1996). به دلیل اینکه در محیط آبی استخراج بتاگلوکان هم پروتئین و هم کربوهیدرات وجود دارد، در اثر افزایش pH محیط، واکنش‌های قهوه‌ای شدن مایلارد تسریع شده و رنگ محصول نهایی تیره‌تر می‌شود.

نتایج نشان داد که اثر خطی فاکتور pH از نظر آماری تاثیر معنی‌داری بر پارامترهای رنگی a^* و b^* بتاگلوکان داشت ($p < 0.001$). با افزایش pH از ۵ به ۹ میزان مولفه a^* افزایش یافت (شکل ۸). همانطور که بیان گردید با افزایش pH سرعت انجام واکنش‌های قهوه‌ای شدن مایلارد افزایش می‌یابد لذا با افزایش pH احتمال تشکیل ترکیبات رنگی بیشتر می‌شود (Fennema, 1996). با توجه به شکل ۸ افزایش pH باعث افزایش مولفه b^* شد. در محیط‌های قلیایی سرعت واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی (مایلارد) افزایش می‌یابد که باعث تولید ترکیبات رنگی مختلف می‌شود. بسته به نوع کربوهیدرات و پروتئین‌های موجود در محیط واکنش، ترکیبات رنگی با طیف رنگی مختلف تولید می‌شود (Fennema, 1996).

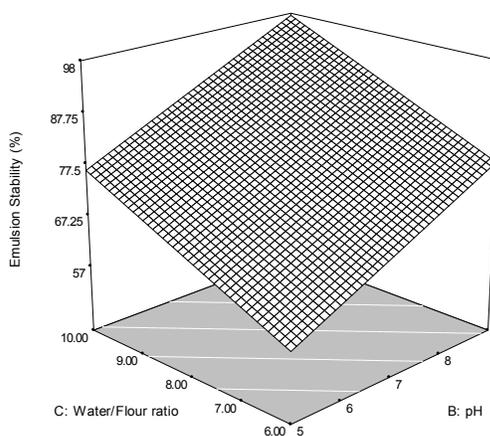
افزایش مولفه b^* با افزایش pH احتمالاً به دلیل تشکیل همین ترکیبات رنگی باشد.

بهبوده‌یابی

شرایط بهینه‌یابی عددی برای استخراج بتاگلوکان از دانه جو بدون پوشینه بر مبنای بیشترین بازدهی و خلوص بتاگلوکان، ضریب قوام L^* ، k و کمترین شاخص رفتار جریان (n) تعیین گردید. جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج بتاگلوکان به روش آب داغ، وزن تمامی متغیرها یکسان در نظر گرفته شد. هدف 3 و اهمیت 4 متغیرها با توجه

اثر خطی فاکتورهای pH و نسبت حلال به آرد جو از نظر آماری تاثیر معنی‌داری بر توانایی پایدارسازی امولسیون بتاگلوکان داشت ($p < 0.001$). اثرات متقابل و درجه دوم هیچ یک از متغیرهای مستقل تأثیری بر پایداری امولسیون نداشتند (جدول ۲).

تغییرات قدرت پایداری امولسیون توسط بتاگلوکان استخراج شده در pHها و نسبت‌های حلال به آرد جو در شکل ۷ نشان داده شده است. با افزایش pH و نسبت حلال به آرد جو توانایی پایدارکنندگی امولسیون بتاگلوکان به شدت افزایش یافت. همانطور که ذکر شد در نسبت‌های بالای حلال به آرد جو به دلیل افزایش خلوص بتاگلوکان استخراج شده، قدرت قوام‌دهندگی آن افزایش می‌یابد (شکل ۷).



شکل ۷- اثر pH و نسبت حلال به آرد جو (زمان = ۶۰ دقیقه) بر توانایی پایدارسازی امولسیون حاوی بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه

بنابراین، این نوع بتاگلوکان می‌تواند باعث افزایش گرانروی فاز آبی امولسیون و پایداری بیشتر امولسیون گردد.

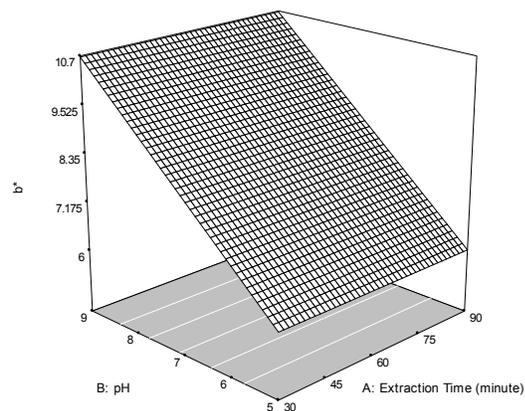
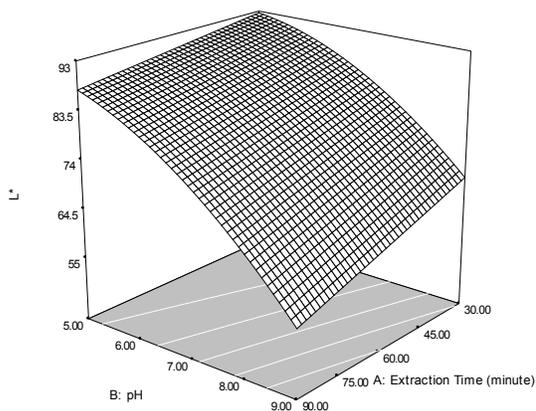
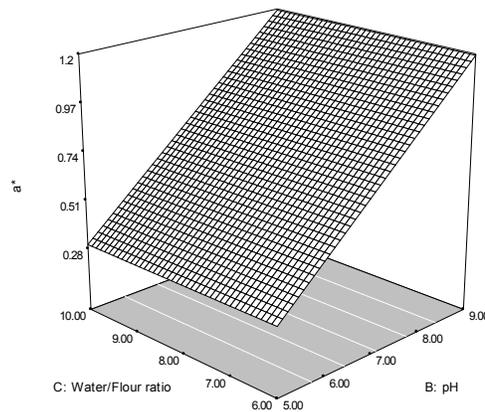
با افزایش pH ضریب قوام بتاگلوکان افزایش یافت (شکل ۵) لذا افزایش گرانروی فاز آبی امولسیون موجب کاهش برخورد قطرات روغن و افزایش پایداری امولسیون می‌شود (شکل ۷) که مطابق با نتایج پژوهش Kontogiorgos و همکاران (۲۰۰۴) بود. این محققان معتقدند بتاگلوکان از طریق افزایش ویسکوزیته فاز آبی باعث پایداری امولسیون روغن در آب حاوی زرده تخم‌مرغ شد

ویژگی‌های رنگی

اثر مدت زمان استخراج و pH بر مؤلفه L^* از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.001$). مؤلفه L^* معادل روشنایی نمونه است. عدد صفر معادل مشکی و ۱۰۰ معادل انعکاس کامل نور می‌باشد.

بهینه زمان استخراج ۹۰ دقیقه، نسبت حلال به آرد جو ۱۰ و pH ۷/۳۳ بود (جدول ۳) که با توجه به این شرایط، بیشترین مقدار بازدهی استخراج، ۴/۱۲ درصد؛ خلوص، ۶۹/۱۱ درصد؛ پایداری کف، ۸۶/۹۵ درصد؛ پایداری امولسیون، ۸۸/۷۷ درصد؛ ضریب قوام، Pa.sⁿ ۱/۵۱؛ شاخص رفتار جریان، ۰/۶۲؛ L*، ۷۳/۴۲؛ a*، ۰/۸۱ و b*، ۸/۷۲ بدست آمد.

به هدف پژوهش یعنی استخراج بتاگلوکان با بیشترین بازده و خلوص و همچنین بیشترین قدرت قوام‌دهندگی، بدین صورت اعمال گردید که برای متغیرهای پاسخ بازده، خلوص و ضریب قوام هدف ماکزیمم و اهمیت ۵ و برای شاخص رفتار جریان هدف مینیمم و اهمیت ۳ و برای L* هدف ماکزیمم و اهمیت ۳ در نظر گرفته شد. برای متغیرهای پاسخ پایداری امولسیون و پایداری کف همچنین پارامترهای a* و b* هدف در محدوده بودن انتخاب شد. شرایط



شکل ۸- اثر متغیرهای استخراج بر تغییرات پارامترهای رنگی L*، a* و b* بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه رقم لوت

حالا به آرد جو در شرایط مدت زمان ثابت (۹۰ دقیقه) نشان می‌دهد. محدوده‌های کوچک سایه‌زده شده در شکل ۹ نشان‌دهنده دامنه بهینه شرایط استخراج برای دستیابی به بیشترین مقدار بازدهی استخراج، خلوص، پایداری کف، پایداری امولسیون، ضریب قوام، L*،

دامنه و محدوده شرایط بهینه استخراج بتاگلوکان از دانه جو بدون پوشینه رقم لوت با رسم نمودارهای کانتور برای تمامی متغیرهای پاسخ تعیین گردید. شکل ۹ تصویر نمودارهای کانتور روی هم قرار گرفته برای ۹ متغیر پاسخ را به عنوان تابعی از pH و نسبت

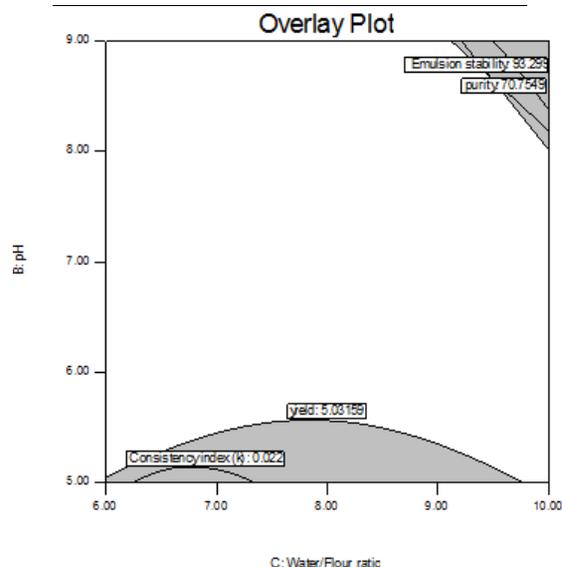
رفتار جریان، پایدارکنندگی کف و امولسیون و ویژگی‌های رنگی بتاگلوکان به‌عنوان یک هیدروکلوئید با خواص عملکردی بالا مشخص شد.

نتایج این تحقیق نشان داد شرایط استخراج تاثیر معنی‌داری بر خواص و ویژگی‌های عملکردی بتاگلوکان داشت. افزایش زمان استخراج اثر مطلوبی بر بازدهی و خلوص بتاگلوکان استخراج شده گذاشت که این امر خود موجب بهبود خاصیت قوام‌دهندگی و ویژگی‌های رفتار جریان آن شد. از طرفی با افزایش قدرت قوام‌دهندگی بتاگلوکان، توانایی پایدارکنندگی سیستم‌های کف و امولسیون نیز افزایش یافت. از طرف دیگر طولانی شدن مدت زمان استخراج به دلیل وقوع واکنش‌های قهوه‌ای شدن اثر نامطلوبی بر رنگ این محصول گذاشت. pH تاثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های بتاگلوکان استخراج شده داشت. افزایش pH موجب کاهش بازدهی استخراج و افزایش خلوص بتاگلوکان گردید. به دلیل تسریع سرعت واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی مایلارد در محیط‌های قلیایی، افزایش pH باعث تیره‌تر شدن رنگ بتاگلوکان شد. از طرف دیگر کاهش pH به دلیل هیدرولیز زنجیره بتاگلوکان و کاهش وزن مولکولی این ترکیب موجب کاهش خواص قوام‌دهندگی این محصول به‌عنوان یک هیدروکلوئید گردید. pH‌های پایین به واسطه هیدرولیز و شکستن پلی‌ساکاریدها و ورود آنها به ترکیبات استخراج شده باعث کاهش خلوص بتاگلوکان شد. افزایش نسبت حلال به آرد جو نیز موجب تسهیل در امر استخراج و افزایش بازدهی و خلوص بتاگلوکان شد. با افزایش بازدهی و خلوص بتاگلوکان ویژگی‌های رفتار جریان و قوام‌دهندگی بتاگلوکان به‌عنوان یک هیدروکلوئید بهبود یافت. بهترین شرایط استخراج برای بیشترین بازدهی و خلوص بتاگلوکان، پایداری کف و امولسیون، ضریب قوام و L^* و کمترین شاخص رفتار جریان زمان استخراج ۹۰ دقیقه، نسبت حلال به آرد جو ۱۰ و pH ۷/۳۳ بود.

a* و b* و کمترین شاخص رفتار جریان می‌باشد. در این محدوده شرایط استخراج بهینه می‌باشد.

جدول ۳- شرایط بهینه پیش‌بینی شده برای استخراج بتاگلوکان از

جو بدون پوشینه رقم لوت			
متغیر مستقل	سطح پایین	سطح بالا	نقطه بهینه
زمان (دقیقه)	۳۰	۹۰	۹۰
pH	۵	۹	۷/۳۳
نسبت حلال به آرد جو	۶	۱۰	۱۰



شکل ۹- نمودار کانتور برای تعیین محدوده بهینه شرایط استخراج بتاگلوکان از جو بدون پوشینه رقم لوت

نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر شرایط استخراج بر ویژگی‌های بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه رقم لوت مورد بررسی قرار گرفت و بهترین شرایط استخراج با توجه به ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی،

منابع

- افشاری جویباری، ح.، فرحناکی، ع. ۱۳۸۸. امکان استفاده از نرم افزار فتوشاپ برای اندازه‌گیری رنگ مواد غذایی: بررسی تغییرات رنگ خرمای مضافتی بم در طی رساندن مصنوعی. پژوهش‌های صنایع غذایی ایران، ۵(۱)، ۳۷-۴۶.
- امیری عقدایی، س. س.، علمی، م.، جعفری، س. م. و صادقی ماهونک، ع. ۱۳۸۹. ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و رئولوژیک بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه. پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۶(۴)، ۲۸۶-۲۹۶.
- جهانیان، ل.، حمیدی اصفهانی، ز.، مرتضوی، ع. ۱۳۸۳. بررسی اثر زانتان و کاراجینان بر خصوصیات کف ایزوله پروتئینی سویا. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، ۱(۱)، ۳۹-۴۸.
- شکرالهی، ب. ۱۳۹۲. ارزیابی تاثیر فراصوت بر ویژگی‌های عملکردی ایزوله پروتئینی عدس. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

Ahmad, A., Anjum, F. M., Zahoor, T., Nawaz, H., Ahmed, Z., 2010, Extraction and characterization of β -d-glucan from oat for industrial utilization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(3), 304-309.

- Ahmad, A., Anjum, F.M., Zahoor, T., Nawaz, H., Din, A., 2009, Physicochemical and functional properties of barley β -glucan as affected by different extraction procedures. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(1), 181-187.
- Bhatty, R.S, 1995, Laboratory and Pilot Plant Extraction and Purification of β -Glucans from Hull-less Barley and Oat Brans. *Journal of Cereal Science* 22, 163-170.
- Beer, M. U., Wood, P. J., Weisz, J., 1997, Molecular Weight Distribution and (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-Glucan Content of Consecutive Extracts of Various Oat and Barley Cultivars I. *Cereal chemistry*, 74(4), 476-480.
- Brennan, C. S., Cleary, L. J., 2005, The potential use of cereal (1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 4)- β -D-glucans as functional food ingredients. *Journal of Cereal Science*, 42(1), 1-13.
- Burkus, Z., Temelli, F., 1998, Effect of extraction conditions on yield, composition, and viscosity stability of barley β -glucan gum. *Cereal chemistry*, 75(6), 805-809.
- Burkus, Z., Temelli, F., 2005, Rheological properties of barley β -glucan. *Carbohydrate Polymers*, 59(4), 459-465.
- Carr, J.M., Glatter, S., Jeraci, J.L., Lewis, B.A., 1990, Enzymic determination of β -glucan in cereal-based food products. *Cereal Chemistry*, 67, 226-229.
- Dawkins, N. L., Nnanna, I. A., 1995, Studies on oat gum [(1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4)- β -D-glucan]: composition, molecular weight estimation and rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 9(1), 1-7.
- Dickinson, E., 2009, Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 26(3), 1473-1482.
- Ebringerova, A., Hromadkova, Z., Heinze, T., 2005, Hemicellulose. Polysaccharides I. Springer, 1-67.
- Fennema, O. R., 1996, Food Chemistry. Madison, Wisconsin, USA: Marcel Dekker, INC.
- Ghotra, B. S., Vasanthan, T., Temelli, F., 2009, Rheological properties of aqueous blends of high purity barley β -glucan with high purity commercial food gums. *Food Chemistry*, 117, 417-425.
- Hager, A. S., Ryan, L. A. M., Schwab, C. Gänzle, M. G., O'Doherty, J. V., Arendt, E. K., 2011, Influence of the soluble fibers inulin and oat β -glucan on quality of dough and bread. *European Food Research and Technology*, 232(3), 405-413.
- Izydorczyk, M. S., Macri, L. J., MacGregor, A. W., 1998, Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides—I. Water-extractable β -glucans and arabinoxylans. *Carbohydrate Polymers*, 35(3), 249-258.
- Knuckles, B. E., Yokoyama, W. H., Chiu, M. M., 1997, Molecular Characterization of Barley β -Glucans by Size-Exclusion Chromatography with Multiple-Angle Laser Light Scattering and Other Detectors. *Cereal Chemistry Journal*, 74(5), 599-604.
- Kontogiorgos, V., Biliaderis, C. G., Kiosseoglou, V., Doxastakis, G., 2004, Stability and rheology of egg-yolk-stabilized concentrated emulsions containing cereal β -glucans of varying molecular size. *Food Hydrocolloids*, 18(6), 987-998.
- Koocheki, A., Taherian, A. R., Razavi, S. M. A., Bostan, A., 2009, Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfoliatum* seeds. *Food Hydrocolloids*, 23, 2369-2379.
- Kulp, K., 2000, Handbook of Cereal Science and Technology. Manhattan, Kansas, USA: Marcel Dekker, INC.
- Launay, B., Doublier, I., & Cavalier, G., 1986, Flow properties of aqueous solution and dispersions of polysaccharides. In J. A. Mitchell (Ed.), Functional properties of food macromolecules (pp. 1-78). New York: Elsevier Applied Science Publishers.
- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Micha-Screttas, M., Steele, B. R., 2004, A comparative study on structure-function relations of mixed-linkage (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4) linear β -D-glucans. *Food Hydrocolloids*, 18(5), 837-855.
- McCleary, B. V., Glennie-Holmes, M., 1985, Enzymic quantification of (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan in barley and malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 91(5), 285-295.
- Morgan, K. R., Ofman, D. J., 1998, Glucagel, 1 A Gelling β -Glucan from Barley. *Cereal Chemistry Journal*, 75(6), 879-881.
- Papageorgiou, M., Lakhdara, N., Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Izydorczyk, M. S., 2005, Water extractable (1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 4)- β -D-glucans from barley and oats: An inter varietal study on their structural features and rheological behavior. *Journal of Cereal Science*, 42(2), 213-224.
- Peterson, D.M., 1991, Genotype and environment effects on oat β -glucan concentration. *Crop Science*, 31, 1517-1520.
- Roman, B. O., Alonso, E., Cocero, M. J., 2013, Ultrasound-assisted extraction of β -glucans from barley. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 57-63.
- Roman, B. O., Alonso, E., Lucas, S., 2011, Optimization of the β -glucan extraction conditions from different waxy barley cultivars. *Journal of Cereal Science*, 53(3), 271-276.
- Shi, X. Q., Chang, K. C., Schwarz, J. G., Wiesenborn, D. P., & Shih, M. C., 1996, Optimizing pectin extraction from sunflower heads by alkaline washing. *Bioresource Technology*, 58(3), 291-297.
- Sirghie, M. C., Kovalenko, I. V., Briggs, J. L., Fulton, B., White, P. J., 2003, Rheological and molecular properties of water soluble (1,3)(1,4)- β -D-glucans from high- β -glucan and traditional oat lines. *Carbohydrate Polymers* 52, 439-447.
- Skendi, A., Biliaderis, C. G., Lazaridou, A., Izydorczyk, M. S., 2003, Structure and rheological properties of water

- soluble β -glucans from oat cultivars of *Avena sativa* and *Avenabysantina*. *Journal of Cereal Science*, 38(1), 15-31.
- Storsley, J. M., Izydorczyk, M. S., You, S., Biliaderis, C. G., Rosnagel, B., 2003, Structure and physicochemical properties of β -glucans and arabinoxylans isolated from hull-less barley. *Food Hydrocolloids*, 17(6), 831-844.
- Temelli, F., 1997, Extraction and Functional Properties of Barley β -Glucan as Affected by Temperature and pH. *Journal of Food Science*, 62(6), 1194-1201.
- Vaikousi, H., Biliaderis, C. G., 2005, Processing and formulation effects on rheological behavior of barley β -glucan aqueous dispersions, *Food chemistry*, 91(3), 505-516.
- Wood, P. J., Webster, F. H., 1986, Oat β -glucan: structure, location and properties. *Oats: Chemistry and technology*, 121-152.
- Wu, Y., Cui, S. W., Tang, J., & Gu, X., 2007, Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds by response surface methodology. *Food Chemistry*, 105, 1599-1605.
- Zhang, D., Doehlert, D. C., Moore, W. R., 1998, Rheological Properties of (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -d-Glucans from Raw, Roasted, and Steamed Oat Groats. *Cereal Chemistry Journal*, 75(4), 433-438



Extraction of hull-less barley (cultivar Lut) β -glucan using hot water: Optimization using response surface methodology

A.Hematian Sourki¹, A.Koocheki^{2*}, M. Elahi³, S. M. A.Razavi⁴

Received: 2014.11.19

Accepted: 2015.03.12

Introduction: β -glucan is the most important water soluble fiber found in cell wall of some cereals such as barley, oat, wheat and rye, that are composed of β -D-glucose units with (1 \rightarrow 4) (70%) and (1 \rightarrow 3) (30%) anomeric bonds (Benito-Román, Alonso, & Cocero, 2013). β -glucan is regarded as a dietary fiber in functional foods. It can act as a hydrocolloid due to its thickening characteristic in aqueous phase and can be used as a stabilizer in some foods such as sauces, salad dressing and ice cream (Dawkins & Nnanna, 1995; Kontogiorgos, Biliaderis, Kiosseoglou, & Doxastakis, 2004; Temelli, 1997; Wood & Webster, 1986). Hull-less barley is a barley variety that has no hard coat around its seeds. The content of soluble fiber e.g. β -glucan in hull-less barley is higher than of ordinary barley varieties. Hull-less barley cv. Lut is the first commercial hull-less barley in Iran registered in 2013 by SPII (Seed and Plant Improvement Institute). Lut is a kind of spring barley cultivar which is precocious and resistant to lodging. Its average yield is 6.425 t/ha and it is suitable to cultivation in temperate regions of Iran (SPII, 2013). This type of barley contains about 6% β -glucan and thus is a good source for β -glucan extraction. To date no research has been conducted on properties of β -glucan from this cultivar of barley. Considering high technological properties of β -glucan, the present study was carried out to determine the optimal condition for extraction of β -glucan from hull-less barley using hot water method to achieve the highest qualitative and best functional properties.

Materials and methods: Barley flour was obtained by grinding whole kernels of cv. Lut in a laboratory mill and sieved through a 0.50 mm screen. Prior to the extraction procedure, 50 g of barley flour was suspended in 200 ml of aqueous ethanol (80%, v/v) and stirred under reflux for 3 h to remove most of the lipids and inactivate the endogenous β -glucanases. The liquid phase was separated by vacuum filtration and dried at 40 °C for 12 h. 50 g of dried defatted barley flour was suspended in specified amounts of distilled water (solvent: flour ratio = 6:1, 8:1 and 10:1) in a 1000 ml beaker. pH was adjusted to the designed levels (5, 7, and 9) by 0.1 N HCl and 0.1 N NaOH solutions. Extraction procedure carried out at 50 \pm 1 °C for 30, 60 and 90 minutes. Total β -glucan content was determined by the specific enzymatic method of McClear and Glennie-Holmes (1985) using the mixed linkage β -glucan assay kit (K-BGLU 07/11) supplied by Megazyme International (Wicklow, Ireland). The colour of β -glucan gums was measured using a Hunter-Lab Colour Flex 45 spectrophotometer (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, USA). The L*a*b* (CIELAB space) colour space measurement was used for colour analysis of β -glucan samples. Emulsion stability (ES) against high temperature was determined by heating emulsions in a water bath at 80 °C for 30 min followed by centrifuging at 1200 g for 10 min. For foam stability, ovalbumin was dissolved in distilled water and added to β -glucan solution and then whipped vigorously with a laboratory rotor-stator homogenizer at room temperature. Flow behaviour measurements were done by a Brookfield viscometer. The flow behavior index (n) and consistency coefficient (k) values were obtained by fitting the power law model. All chemicals, reagents and solvents were of analytical grade and obtained either from Sigma-Aldrich Co (Deisenhofen, Germany) or from Merck (Darmstadt, Germany).

Results & Discussion: Results showed that the extraction time, solvent: flour ratio and pH had significant effect on extraction yield, purity, foam and emulsion stability, consistency coefficient (k), flow behavior index (n) and colour. Increasing the extraction time had significant effects on β -glucan's yield and purity and improved the emulsion and foam stabilizing effect of β -glucan. Increasing the pH from 5 to 9 significantly enhanced the

1. Former Ph.D student, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad and Department of Food Science and Technology, Jahrom University, Jahrom, Iran.

2, 3 and 4. Associate Professor, Assistant Professor and Professor, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.

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

purity, consistency coefficient (k), foam and emulsion stability. At higher pH levels, extraction yield, flow behavior index (n) and L^* decreased. With increasing solvent:flour ratio, extraction yield, purity, consistency coefficient (k), foam and emulsion stability significantly increased. In contrast, the flow behavior index (n) decreased as a result of increase in solvent: flour ratio. However, solvent: flour ratio had no significant effect on L^* , a^* and b^* . Models presented in this study were highly significant and the correlation coefficients could be used for optimization of β -glucan extraction from hull-less barley. Considering the importance and desirability of the response variables, the best results were obtained when the extraction time, solvent: flour ratio and pH were 90 min, 10:1 and 7.33 respectively. At the optimal condition, extraction yield, purity, foam stability, emulsion stability, consistency coefficient (k), flow behavior index (n), L^* , a^* and b^* were 4.12%, 69.11%, 86.95%, 88.77%, 1.51 Pa.sⁿ, 0.62, 73.42, 0.81 and 8.72 respectively.

Keywords: β -Glucan, Hull-Less Barley, Response Surface Method, Flow Behavior, Emulsion Stability

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسیدهای وانیلیک و سیرینجیک در روغن ماهی کیلکا و امولسیون روغن در آب آن

نجمه ملاحمدی بهراسمان^۱، رضا فرهوش^{۲*}، سعید جانی^۳، علی شریف^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۲۱

چکیده

پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا در حضور دو مشتق اسید فنلی (وانیلیک و سیرینجیک) مورد بررسی قرار گرفت. آلفا-توکوفرول به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. دو خصوصیت، مهارکنندگی رادیکال آزاد دی‌پی‌پی‌اچ و قطبیت نسبی آنتی‌اکسیدان‌های مذکور اندازه‌گیری شد. روغن به روش کروماتوگرافی جذبی تخلیص و ۲۰۰ پی‌پی‌ام از آنتی‌اکسیدان‌های مورد مطالعه به آن اضافه شد و شرایط رژیم سینتیکی در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد برقرار گردید. در طول زمان گرمخانه‌گذاری در فواصل زمانی معین از روغن نمونه‌برداری و عدد پراکسید اندازه‌گیری شد. روند اکسایش امولسیون ۱۰ درصد نیز در همان دما بررسی شد. نتایج نشان داد اسید سیرینجیک با وجود قطبیت نسبی بالا و نیز قدرت مهارکنندگی بالایی که داشت، عملکرد آن در روغن تحت برهمکنش‌های درون مولکولی کاهش یافت و از فرضیه معروف "تناقض قطبی" تبعیت نمود. کارایی آنتی‌اکسیدانی اسید سیرینجیک در امولسیون نسبت به روغن افزایش قابل توجهی نشان داد و مشابه آلفا-توکوفرول بود. قدرت مهارکنندگی رادیکال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید وانیلیک مشابه هم بود. بطور کلی امولسیفایر و عملیات تهیه امولسیون نسبت به آنتی‌اکسیدان، نقش پررنگ‌تری در پایداری اکسایشی روغن امولسیون شده داشتند.

واژه‌های کلیدی: اسید فنلی، امولسیون، آنتی‌اکسیدان، تناقض قطبی، روغن ماهی

مقدمه

در ساختمان آنها موجب حساسیت بیش از حد به اکسایش می‌شود. اکسایش همچنین عامل محدودکننده کاربرد روغن ماهی در مواد غذایی فراوری شده، مکمل‌های غذایی، غذا- داروها و امولسیون‌ها می‌باشد (Frankel et al., 2002).

امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان روشی موثر و مفید برای کنترل فساد اکسایشی و عوارض ناشی از آن و بهترین جایگزین برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مطرح است (Maqsood & Benjakul, 2010). Pazos و همکاران (۲۰۰۵) فعالیت آنتی-اکسیدانی پلی‌فنل‌های انگور را در روغن ماهی و امولسیون آن در آب مورد مطالعه قرار دادند نتایج این تحقیق نشان داد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در انگور در افزایش پایداری روغن ماهی موثر است. در بررسی پایداری اکسایشی روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف اسید کارنوسیک نشان داده شد اسید کارنوسیک می‌تواند بطور موثری از تولید محصولات اکسایشی در روغن ماهی ممانعت به عمل آورد و همچنین افزودن آنتی‌اکسیدان و نگهداری در دمای پایین سبب بیشترین مقاومت اکسایشی در روغن می‌شود (Wang et al., 2011). اثر اسانس‌های پونه کوهی و جعفری، پساب روغن کشتی

نقش بسیار مفید تغذیه‌ای و طبی اسیدهای چرب امگا-۳ باعث شده‌است پژوهش‌های زیادی روی روغن‌های دریایی انجام بگیرد. روغن کیلکا دارای میزان قابل توجهی اسید چرب امگا-۳ است (Turchini et al., 2010). اهمیت و نقش این اسیدهای چرب در کاهش کلسترول خون، پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی، رشد سلول‌های مغز و تقویت سیستم ایمنی بدن انسان به اثبات رسیده است (Fomuso et al., 2002). اسیدهای چرب امگا-۳ از دسته اسیدهای چرب چند غیراشباع هستند و وجود بیش از دو پیوند دوگانه

۱ و ۳- دانش‌آموختگان کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۲ و ۴- به ترتیب استاد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

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

مواد و روش‌ها

مواد

اسید سیرینجیک از شرکت مرک، آلفا-توکوفرول و اسید وانیلیک از شرکت سیگما خریداری شدند. سیلیکاژل (نوع ۶۰ با مش ۰/۰۶۳ تا ۰/۲)، اکسید آلومینیوم (نوع ۹۰ فعال خنثی)، دی‌پی‌پی‌اچ، و حلال‌های (متانول، اکتانول، هگزان) مورد استفاده نیز تولیدی شرکت‌های مرک و سیگما با درجه خلوص بالا بودند. روغن خام ماهی کیلکا نیز از شرکت شیلات شمال ایران (بابلسر) تهیه گردید.

روش‌ها

قدرت مهارکنندگی رادیکال دی‌پی‌پی‌اچ طبق روش Siger و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد: بدین صورت که ابتدا محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف اسید سیرینجیک ۰ تا ۵۰ پی‌پی‌ام، اسید وانیلیک ۰ تا ۲۰ پی‌پی‌ام) از آنتی‌اکسیدان در متانول تهیه گردید به لوله آزمایش حامل یک میلی‌لیتر محلول دی‌پی‌پی‌اچ، یک میلی‌لیتر محلول آنتی‌اکسیدان و ۳ میلی‌لیتر حلال متانول اضافه گردید؛ جذب محلول‌ها پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در محل تاریک در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و درصد مهارکنندگی رادیکال طبق رابطه (۱) محاسبه گردید.

$$\%A = 100 (A_C - A_S) / A_C \quad (1)$$

که در آن %A درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد دی‌پی‌پی‌اچ، A_C جذب شاهد (شاهد، نمونه فاقد آنتی‌اکسیدان است)، و A_S جذب نمونه است. نمودار درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد در برابر غلظت ترکیب آنتی‌اکسیدانی به کمک نرم‌افزار اکسل ترسیم و شاخص IC_{50} محاسبه گردید. IC_{50} بیانگر غلظتی از آنتی‌اکسیدان است که قادر به مهار کردن ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد است.

شاخص $\log p$ که نشان‌دهنده قطبیت نسبی هر ماده است، نیز به روش Gordon (۲۰۰۱) اندازه‌گیری شد محلول ۰/۳ میلی‌مول از آنتی‌اکسیدان‌های مورد مطالعه در n -اکتانول تهیه گردید و به مدت یک ساعت درون آن با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس طیف جذبی آنها در ناحیه فرابنفش گرفته و حداکثر جذب آنها قرائت شد (A_0). مقداری برابر از این محلول با بافر استات (۰/۱، ۵/۵ pH) مخلوط و با کمک ورتکس کاملاً هم‌زده شد. فاز آلی مخلوط حاصل پس از نیم ساعت نگهداری در حالت سکون به کمک سانتریفوژ جداسازی و مجدداً طیف جذبی آن در ناحیه فرابنفش گرفته شد (A_x). ضریب حلالیت نسبی طبق رابطه (۲) محاسبه شد:

$$P = C_{n\text{-octanol}} / C_{\text{water}} = A_x / (A_0 - A_x) \quad (2)$$

که (A_0) حداکثر جذب محلول آنتی‌اکسیدان در اکتانول و (A_x) حداکثر جذب فاز آلی جدا شده، در ناحیه فرابنفش می‌باشند. روغن خام ماهی کیلکا با اعمال تغییراتی در روش Marinova &

زیتون، ترولکس و EDTA بر اکسایش امولسیون‌های روغن در آب حاوی ۵ درصد روغن ماهی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد طی ۱۴ روز پایش گردید. بهترین عملکرد در بین ترکیبات مزبور به پساب روغن‌کشی زیتون و EDTA اختصاص داشت (Jimenez- Alvarez et al., 2008).

مشتمات اسیدهای بنزوئیک و سینامیک، دو گروه عمده از اسیدهای فنولی هستند که از دسته آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی محسوب می‌شوند این ترکیبات به واسطه وجود یک حلقه فنلی و زنجیره‌های جانبی در ساختمان خود، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد و شکستن زنجیره اکسایش چربی‌ها را دارند اسیدهای سیرینجیک و وانیلیک از شناخته شده‌ترین مشتمات اسید بنزوئیک هستند که در طیف وسیعی از فراورده‌های گیاهی از جمله زیتون، سویا و وانیل یافت می‌شوند. حضور گروه‌های هیدروکسیل و متوکسی در ساختمان این آنتی‌اکسیدان‌ها، قابلیت مهارکنندگی رادیکال و ممانعت از پیشرفت واکنش اکسایش را به آنها بخشیده است (shahidi, 2005).

این ترکیبات کاربرد فراوانی در صنایع غذایی و داروسازی دارند، تاکنون محققان زیادی تاثیر آن را در روغن خوراکی (Marinova, & Pekkarinen, et al. 1999; Yanishlieva, 1994)، امولسیون (Bountagkidou et al. 2010)، دارو و محصولات آرایشی و بهداشتی (Lu, et al. 2006; Itoh, et al. 2009; Beekrum, et al. 2003) مورد بررسی قرار داده‌اند. اثر درمانی اسید سیرینجیک در ممانعت از تکثیر سلول‌های سرطان پوست، روده بزرگ و سینه نیز به اثبات رسیده است (Orabi et al. 2013).

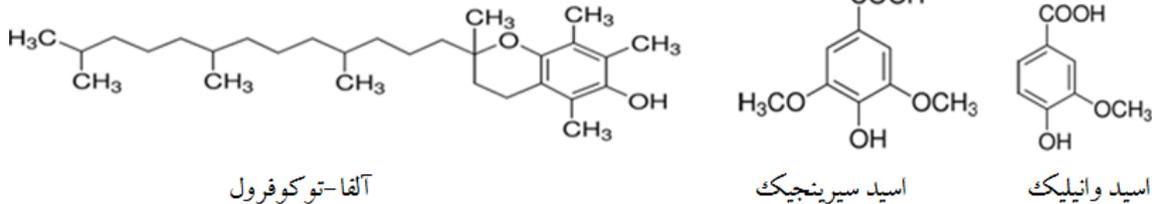
عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها به عوامل مختلفی از جمله ساختمان شیمیایی، برهم‌کنش با محیط اکسایشی، میزان آبگریزی و خصوصیات سطحی روغن یا امولسیون بستگی دارد (Frankel et al., 1996; Marinova & Yanishlieva, 2003).

porter و همکاران (۱۹۸۹) مشاهدات خود در زمینه رفتار آنتی-اکسیدان‌ها را تحت عنوان «تناقض قطبی^۱» بیان نمودند. این پدیده بیانگر آن است که آنتی‌اکسیدان‌های قطبی در محیط‌های روغنی و آنتی‌اکسیدان‌های غیرقطبی در سیستم‌های امولسیونی روغن در آب بطور معمول موثرتر عمل می‌کنند.

تحقیق حاضر با هدف بررسی پایداری اکسایشی روغن کیلکا و امولسیون روغن در آب آن، در حضور اسیدهای وانیلیک و سیرینجیک، یافتن ارتباط بین ساختمان شیمیایی و فعالیت آنتی-اکسیدانی ترکیبات مذکور و مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها با آلفا توکوفرول صورت پذیرفت.

سیلیکاژل (فعال شده در دمای به ترتیب ۲۰۰ و ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه ساعت) بود، ریخته شد و ستون مذکور بمنظور ممانعت از اکسایش روغن، توسط فویل آلومینیوم پوشیده شد.

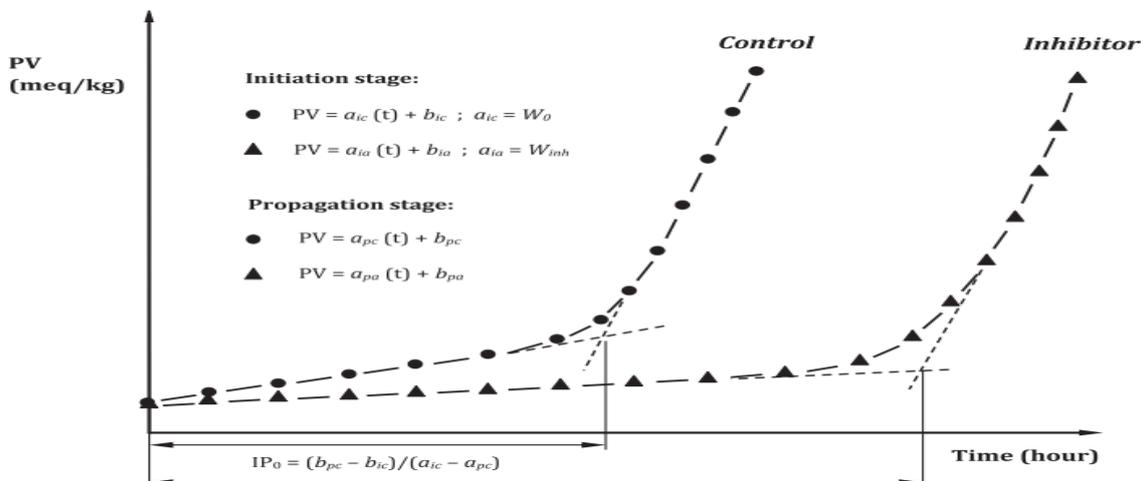
Yanishlieva (۲۰۰۳) تخلیص، مواد آنتی و پروکسیدانی آن حذف و تری‌آسیل گلیسرول‌های آن استحصال شد: ۱۲۰ گرم روغن خام کیلکا درون ستون شیشه‌ای کروماتوگرافی با قطر و ارتفاع به ترتیب ۴/۵ و ۵۰ سانتی‌متر که حاوی ۶۰ گرم اکسید آلومینیوم ۸۰ گرم



شکل ۱- ساختمان شیمیایی آنتی‌اکسیدان‌های مورد مطالعه

محاسبه گردید (Farhoosh & Hoseini-Yazdi, 2013). امولسیون ۱۰ درصد روغن کیلکا در آب، حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام از آنتی‌اکسیدان‌های مذکور، و پنج درصد پروتئین ایزوله سویا به‌عنوان امولسیفایر تهیه گردید. امولسیون به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه دستگاه اولتراتوراکس (دی کاتی ۲۵ دیجیتال) تهیه شد. و سپس ۴ دقیقه توسط سونیکاتور (اکس ال ۲۰۲۰) تحت فراصوت قرار گرفت. عملیات اخیر در حمام آب یخ و با هدف پایدارسازی امولسیون انجام گرفت. امولسیون حاصل درون لوله‌هایی با حجم ۱۰ میلی‌لیتر ریخته و داخل آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد نهاده شد. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از نرم افزار Mini Tab و بر اساس آزمون توکی در سطح پنج درصد ($P < 0.05$) انجام پذیرفت.

به ۴ گرم روغن تخلیص شده ۲۰۰ پی‌پی‌ام از آنتی‌اکسیدان‌های مذکور اضافه شد و درون پلیت‌هایی با قطر ۸ سانتی‌متر که ضخامت روغن درون آنها کمتر از یک میلی‌متر بود داخل آون در معرض دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد نهاده شد. بمنظور پایش مداوم وضعیت اکسایش و بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدان‌ها، در طول گرمخانه‌گذاری، در فواصل زمانی معین (زمان‌های نمونه برداری برای آنتی‌اکسیدان‌های مختلف، بسته به قدرت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها و میزان افزایشی که در دوره القا روغن ایجاد می‌کند، متفاوت است. به‌طور تقریبی زمان‌ها طوری انتخاب شد که پس از رسم منحنی، مراحل اکسایش، مطابق شکل ۲ کاملاً مشهود باشند). از روغن داخل پلیت‌ها نمونه‌برداری شد و عدد پراکسید بر اساس روش Shantha و Decker (۱۹۹۴) اندازه‌گیری گردید. نمودار تغییرات عدد پراکسید نسبت به زمان ترسیم و دوره القاء و شاخص‌های سینتیکی F ، A و ORR (جدول ۲)



شکل ۲- نمایی از منحنی سینتیک تولید پراکسید طی اکسایش چربی

جدول ۱- شاخص‌های سیپتیکی اکسایش چربی

توضیحات	فرمول	شاخص
شیب منحنی دوره آغازین		سرعت واکنش (W_{inh})
حاصل نسبت دوره القاء با و بدون آنتی‌اکسیدان	$F = IP_{inh}/IP_o$	شاخص پایدارسازی (F)
نسبت سرعت اکسایش در حضور و عدم حضور آنتی‌اکسیدان	$ORR = W_{inh}/W_o$	نسبت سرعت اکسایش
توانایی آنتی‌اکسیدان در مهار رادیکال و کاهش سرعت اکسایش	$A = F/ORR$	فعالیت

نتایج و بحث

قدرت مهارکنندگی رادیکال دی‌پی‌بی‌اچ و قطبیت نسبی

دارد. در واقع حضور گروه‌های الکترون‌دهنده، روی حلقه فنلی جدا شدن اتم هیدروژن و انتقال آن به رادیکال را آسان‌تر نموده، و به پایداری رادیکال فنوکسی کمک می‌کند. آلفا-توکوفرول با داشتن یک گروه هیدروکسیل در ساختمان خود، قدرت مهارکنندگی بیش از اسید وانیلیک و کمتر از اسید سیرینجیک داشت (شکل ۱).
 Log P نماد کمی قطبیت هر ماده است. Log P بیشتر نشان‌دهنده قطبیت کمتر است. همانگونه که در جدول ۲ نشان داده شده است اسید سیرینجیک حائز بیشترین قطبیت ($\text{Log P} = -0.65$) نسبت به وانیلیک ($\text{Log P} = -0.32$) و آلفا-توکوفرول ($\text{Log P} = 2/3$) است. حضور گروه‌های متوکسی و هیدروکسیل در موقعیت اورتو نسبت به گروه هیدروکسیل در ساختمان اسید سیرینجیک احتمالاً تشکیل پیوند هیدروژنی درون مولکولی را موجب شده و در نتیجه قطبیت نسبی مولکول را افزایش داده است (Fennema, 1996).

در آزمون مهارکنندگی رادیکال، اسید سیرینجیک بیشترین $IC_{50} = 54/2$ میکرومول برلیتر) قدرت را نشان داد، فعالیت آلفا-توکوفرول ($IC_{50} = 105/29$ میکرومول برلیتر) کمتر از سیرینجیک و بیشتر از وانیلیک ($IC_{50} = 418/22$ میکرومول برلیتر) بود. این نتایج با مشاهدات von Gadow و همکاران (۱۹۹۷) همخوانی داشت. آنها قدرت مهارکنندگی سیرینجیک را $85/5\%$ ، آلفا-توکوفرول را $75/1\%$ و وانیلیک را $20/7\%$ گزارش کردند. تعداد، نوع و موقعیت قرارگیری گروه‌های الکترون‌دهنده متصل به حلقه فنلی بر قدرت آنتی-اکسیدانی اسیدهای فنلی و مشتقات آنها موثر است (Pekkarinen *et al*, 1999). بی‌تردید اسید سیرینجیک با دارا بودن دو گروه متوکسی توانایی بیشتری در دادن اتم هیدروژن و مهار رادیکال را

جدول ۲- فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (IC_{50}) و Log P

Log P	IC_{50} (میکرومول برلیتر)	آنتی‌اکسیدان
-0.32 ± 0.02^b	$418/22 \pm 10/4^a$	اسید وانیلیک
-0.65 ± 0.05^c	$54/2 \pm 0/5^c$	اسید سیرینجیک
$2/3 \pm 0.04^a$	$105/29 \pm 0/23^b$	آلفا-توکوفرول

عملکرد قابل ملاحظه‌ای از خود نشان نداد. علت این امر احتمالاً با برهمکنش‌های درون مولکولی مرتبط است. برهمکنش‌های درون مولکولی ممکن است عملکرد آنتی‌اکسیدانی را دستخوش تغییر نماید. حضور گروه‌های متوکسی در موقعیت اورتو نسبت به گروه هیدروکسیل امکان تشکیل پیوند هیدروژنی را افزایش داده، فعالیت آنتی‌اکسیدانی را کاهش می‌دهد (De Heer, 1999). نتایج مشابهی در تحقیقات Torres و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی فعالیت آنتی-اکسیدانی چند ترکیب فنلی در روغن زیتون به روش رنسیمت به دست آمده است. در حقیقت عدم وجود ترکیبات قطبی در محیط روغنی احتمال تشکیل و قدرت پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی را افزایش می‌دهد (Fennema, 1996).

طبق تعریف، شاخص F نشان‌دهنده نسبت IP نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان به نمونه شاهد (IP_{inh}/IP_o) و A حاصل تقسیم F به شاخص نسبت سرعت اکسایش است (F/ORR) (جدول ۱) تفاوت

فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در روغن

روند تغییرات پراکسید در طول زمان عمدتاً از تابع نمایی تبعیت می‌کند (مطابق شکل ۲). زیرا این ترکیبات ناپایدار بوده و به سرعت تجزیه می‌شوند. طول دوره القاء (IP) نشان‌دهنده پایداری اکسایشی روغن است که در حضور آنتی‌اکسیدان افزایش می‌یابد. مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید سیرینجیک و وانیلیک نشان داد تفاوت آماری معنی‌داری بین نمونه فاقد آنتی‌اکسیدان و نمونه دارای سیرینجیک وجود ندارد اما وانیلیک اندکی بیش از سیرینجیک دوره القا (IP) روغن را افزایش داد در حالیکه که فعالیت آلفا-توکوفرول بسیار بیشتر از این دو آنتی‌اکسیدان بود. نتایج در جدول ۳ نشان داده شده است.

سیرینجیک به رغم آنکه از قدرت مهارکنندگی رادیکال قابل توجهی برخوردار است اما در افزایش پایداری اکسایشی روغن کیلکا

آب، در حضور سه امولسیفایر پروتئین ایزوله آب پنیر، کازئینات سدیم و پروتئین ایزوله سویا مشاهده نشد بیشترین مقدار این شاخص‌ها مربوط به آلفا-توکوفرول بود (جدول ۳). این بدان معنی است که آلفا-توکوفرول نسبت به سایر آنتی‌اکسیدان‌های این تحقیق، بهترین عملکرد را در روغن کیلکا داشته است. انرژی پایین و عدم تمایل رادیکال حاصل از آنتی‌اکسیدان (پس از جدا شدن اتم هیدروژن) به شرکت در واکنش‌های زنجیره‌ای اکسایش یکی از دلایل عملکرد بالای آنتی‌اکسیدان در محیط اکسایشی است، این خصوصیت در مورد آلفا-توکوفرول صدق می‌کند (Marinova & Yanishlieva, 1992).

فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در امولسیون

عملکرد آنتی‌اکسیدان‌های مورد مطالعه در امولسیون نسبت به روغن تفاوت قابل ملاحظه‌ای داشت. مقایسه W_{inh} و IP نمونه شاهد روغن و امولسیون (جدول ۳) به‌وضوح نشان‌دهنده تفاوت شگرف پایداری اکسایشی روغن در دو سامانه‌ی روغنی و امولسیونی است. آنچه مسلم است این است که نمی‌توان نقش امولسیفایر و عملیات تهیه امولسیون را در پایداری اکسایشی امولسیون نادیده گرفت.

بطور کلی، مکانیسم اکسایش چربی در سامانه‌ی روغنی و امولسیونی متفاوت است (Frankel et al, 1996). محققان پیشین همواره بر این مسئله اتفاق نظر داشته‌اند که اکسایش در امولسیون‌ها پدیده‌ی پیچیده‌ای است و عوامل موثر بر آن پیچیده‌تر و متنوع‌تر هستند؛ قطر قطرات روغن، بارالکتریکی امولسیون، نوع و اندازه امولسیفایر، رفتار امولسیفایر در فصل مشترک آب-روغن از جمله عوامل موثر بر واکنش‌های اکسایش چربی در امولسیون‌ها می‌باشند (McClements & Decker, 2000; Frankel et al, 1996; Schwarz & Frankel, 1996).

نتایج محققان نشان می‌دهد پروتئین که به‌عنوان امولسیفایر در تهیه امولسیون بکاربرده می‌شود، می‌تواند بر اکسایش چربی امولسیون شده اثر بازدارندگی داشته‌باشد. پروتئین‌ها با مکانیسم‌های مختلفی اثر ضداکسایشی نشان می‌دهند: ایجاد نیروی دافعه و راندن فلزات پروکسیدان به‌واسطه بار مثبت، مهار رادیکال‌های آزاد، مهار فلزات پروکسیدان و برهمکنش با محصولات اکسایش از جمله این مکانیسم‌ها هستند (Wu et al, 2003; McClements & Decker, 2000; Frankel et al, 1996; McClements, 1999).

محققان در بررسی پایداری اکسایشی امولسیون روغن ماهی در

علاوه بر این، Patei و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند پروتئین سویا حاوی ایزوفلاوون است که در مهار رادیکال‌های پراکسیل موثر است. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های گذشتگان همخوانی دارد؛ پروتئین ایزوله سویا اثر محافظت‌کنندگی قابل ملاحظه‌ای بر امولسیون روغن کیلکا داشت. اثر ضداکسایشی پروتئین ایزوله سویا احتمالاً به مهار رادیکال‌های آزاد توسط برخی اسیدهای آمینه و ایجاد لایه‌ی محافظ اطراف ذرات روغن مرتبط است.

ارتباط قدرت بالای مهارکنندگی رادیکال ($IC_{50} = 54/2$) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید سیرینجیک، در سامانه امولسیونی مشهودتر است. افزایش در IP و شاخص A موثراً این مسئله است. فعالیت اسید سیرینجیک در امولسیون نسبت به روغن ۲/۵ برابر افزایش یافته‌است. مهار رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^{\cdot}) که رادیکال‌های قوی هستند و احتمال تشکیل آن‌ها در محیط آبی نیز بیشتر است، توسط اسید سیرینجیک می‌تواند یکی از دلایل عملکرد خوب اسید سیرینجیک در امولسیون باشد، در این خصوص نتایج مشابهی برای اسید سیناپیک (از دسته اسیدهای فنلی) گزارش شده- است (Zou et al, 2002). علاوه بر این، Galano و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند دو عامل قطبیت محیط و دپروتونه شدن اسید سیناپیک قابلیت آنرا در مهار رادیکال پراکسیل افزایش می‌دهد. همین محققان گزارش کردند قدرت مهارکنندگی رادیکال اسید سیناپیک در محیط آبی ۶/۳۲ برابر بیش از محیط روغنی است. به رغم فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتر آلفا-توکوفرول در سامانه امولسیونی نسبت به روغن (شاخص A به ترتیب ۳/۵۶ و ۱۶/۱)، فعالیت آن بیش از سایر آنتی‌اکسیدان‌های مورد آزمون بود. احتمالاً طبیعت چربی دوست آلفا-توکوفرول ($\log p = 2/3$) تمایل آنرا به سمت فاز روغنی امولسیون، جایی که مسلماً احتمال وقوع اکسایش بیشتر است، افزایش می‌دهد. وانیلیک در مقایسه با دو ترکیب دیگر عملکرد ضعیفی داشته است. بنظر می‌رسد علت عملکرد ضعیف آن، با قابلیت کم این آنتی‌اکسیدان در مهار رادیکال‌های آزاد مرتبط باشد ($IC_{50} = 418/22$).

جدول ۳- شاخص‌های سنتیکی (A: میزان فعالیت، ORR: نسبت سرعت اکسایش، F: کارایی، W_{inh} : سرعت اکسایش در دوره القاء در حضور آنتی‌اکسیدان) و IP: دوره القاء (ساعت) روغن و امولسیون در حضور ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان.

شاخص‌های سینتیکی					
A	ORR	F	W_{inh}	IP	آنتی‌اکسیدان
					سامانه روغنی
					شاهد
۱/۳۹+۰/۳۶ ^b	۱/۲۲+۰/۲۴ ^a	۱/۷+۰/۲۴ ^b	۴/۴۶+۰/۴۳ ^a	۲/۱۷+۰/۲۱ ^c	اسید وانیلیک
۱/۳۱+۰/۲۱ ^b	۰/۹۵+۰/۱۱ ^b	۱/۰۲۴+۰/۱۴ ^b	۵/۴۶+۰/۹۲ ^a	۳/۵۷+۰/۴۸ ^b	اسید سیرینجیک
۱۶/۱+۲/۷ ^a	۰/۴+۰/۰۵ ^b	۶/۴۴+۰/۷۲ ^a	۱/۸+۰/۱۱ ^b	۱۳/۵۲+۰/۶۸ ^a	آلفا-توکوفرول
					سامانه امولسیونی
					شاهد
۱/۳۲+۰/۳۴ ^b	۰/۸۶+۰/۰۶ ^a	۱/۱۴+۰/۱۲ ^c	۰/۲۳+۰/۰۱ ^a	۳۱/۳۳+۰/۲۴ ^c	اسید وانیلیک
۳/۱+۰/۲ ^a	۰/۵۸+۰/۰۲ ^b	۱/۷۹+۰/۰۴ ^b	۰/۲۱+۰/۰۰ ^b	۳۴/۴۷+۲/۳۷ ^c	اسید سیرینجیک
۳/۵۶+۰/۵۲ ^a	۰/۶+۰/۱۳ ^b	۲/۰۹+۰/۱۵ ^a	۰/۱۳+۰/۰۱ ^c	۵۵/۹۸+۱/۴۵ ^b	آلفا-توکوفرول
					آلفا-توکوفرول

نتیجه‌گیری

داشت، عملکرد آن در روغن تحت برهم‌کنش‌های درون مولکولی کاهش یافت. آلفا-توکوفرول هم در سامانه روغنی و هم امولسیونی فعالیت با اختلاف چشمگیر نسبت به اسید وانیلیک داشت. اما عملکرد آن در امولسیون تقریباً شبیه اسید سیرینجیک بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید سیرینجیک در سامانه امولسیونی نسبت به روغنی افزایش ۲/۵ برابری داشت.

عملکرد آنتی‌اکسیدانی اسید وانیلیک و سیرینجیک در پایدارسازی روغن ماهی کیلکا و امولسیون آن در آب به روش شال آن در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد بررسی و با آلفا-توکوفرول مقایسه شد. نتایج نشان داد اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد نمی‌تواند معیار کافی برای پیش بینی فعالیت آنتی‌اکسیدانی باشد؛ اسید سیرینجیک به رغم قدرت مهارکنندگی رادیکال بالایی که

منابع

- Beekrum, S., Govinden, R., Padayachee, T., & Odhav, B. (2003). Naturally occurring phenols: a detoxification strategy for fumonisin B1. *Food Additives & Contaminants*, 20(5), 490-493.
- Bountagkidou, O. G., Ordoudi, S. A., & Tsimidou, M. Z. (2010). Structure-antioxidant activity relationship study of natural hydroxybenzaldehydes using in vitro assays. *Food Research International*, 43(8): 2014-2019.
- De Heer, M.I., Korth, H.G., & Mulder, P. (1999). Polymethoxy phenols in solution: O-H bond dissociation enthalpies, structures, and hydrogen bonding. *The Journal of Organic Chemistry*, 64(19): 6969-6975.
- Faraji, H., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2004). Role of continuous phase protein on the oxidative stability of fish oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(14), 4558-4564.
- Farhoosh, R., & Hoseini-Yazdi, S.-Z. (2013). Shelf-life prediction of olive oils using empirical models developed at low and high temperatures. *Food Chemistry*, 141(1):557-565.
- Fennema, O.R. 1996. *Food Chemistry*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Fomuso, L. B., Corredig, M., & Akoh, C. C. (2002). Effect of emulsifier on oxidation properties of fish oil-based structured lipid emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10):2957-2961.
- Frankel, E. N., Huang, S.-W., Kanner, J., & German, J. B. (1994). Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 42(5), 1054-1059.
- Frankel, E. N., Huang, S. W., Prior, E., & Aeschbach, R. (1996). Evaluation of antioxidant activity of rosemary extracts, carnosol and carnosic acid in bulk vegetable oils and fish oil and their emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72(2): 201-208.
- Frankel, E. N., Satué-Gracia, T., Meyer, A. S., & German, J. B. (2002). Oxidative stability of fish and algae oils containing long-chain polyunsaturated fatty acids in bulk and in oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(7): 2094-2099.
- Galano, A., Francisco-Marquez, M., & Alvarez-Idaboy, R. (2011). Mechanism and kinetics studies on the antioxidant activity of sinapinic acid. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13(23): 11199-11205.

- Gordon, M. H., Paiva-Martins, F., & Almeida, M. (2001). Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(5): 2480-2485.
- Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., Kobayashi, M., Tamesada, M., & Yagi, K. (2009). Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on concanavalin a-induced liver injury. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(7), 1215-1219.
- Jimenez-Alvarez, D., Giuffrida, F., Golay, P.A., Cotting, C., Lardeau, A., Keely, B.J. (2008). Antioxidant activity of oregano, parsley and olive mill wastewaters in bulk oils and oil in water emulsions enriched in fish oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16): 7151-7159.
- Lu, Z., Nie, G., Belton, P. S., Tang, H., & Zhao, B. (2006). Structure-activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives. *Neurochemistry International*, 48(4), 263-274.
- Maqsood, S. & S. Benjakul (2010). Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. *Food Chemistry*, 119(1): 123-132.
- Marinova, E. M. & N. V. Yanishlieva (1992). Effect of temperature on the antioxidative action of inhibitors in lipid autoxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 60(3): 313-318.
- Marinova, E. M., & Yanishlieva, N. V. (1994). Effect of lipid unsaturation on the antioxidative activity of some phenolic acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(4), 427-434.
- Marinova, E. M. & N. V. Yanishlieva (2003). Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. *Food Chemistry*, 81(6): 189-197.
- McClements, D. & Decker, E. (2000). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. *Journal of Food Science*, 65(8): 1270-1282.
- McClements, D. J. (1999). *Food emulsions: Principles, practices and techniques*, CRC press.
- Orabi, K. Y., Abaza, M. S., El Sayed, K. A., Elnagar, A. Y., Al-Attayah, R., & Guleri, R. P. (2013). Selective growth inhibition of human malignant melanoma cells by syringic acid-derived proteasome inhibitors. *Cancer cell international*, 13(1): 82.
- Patel, R. P., Boersma, B. J., Crawford, J. H., Hogg, N., Kirk, M., Kalyanaraman, B., ... & Darley-USmar, V. (2001). Antioxidant mechanisms of isoflavones in lipid systems: paradoxical effects of peroxy radical scavenging. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(12), 1570-1581.
- Pazos, M., Gallardo, J. M., Torres, J.L., and Medina, I. (2005). Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry*, 92(3): 547-557.
- Pekkarinen, S. S., Stöckmann, H., Schwarz, K., Heinonen, I. M., & Hopia, A. I. (1999). Antioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(8): 3036-3043.
- Porter, W. L., Black, E. D., & Drolet, A. M. (1989). Use of polyamide oxidative fluorescence test on lipid emulsions: contrast in relative effectiveness of antioxidants in bulk versus dispersed systems. *Journal of agricultural and food chemistry*, 37(3): 615-624.
- Shahidi, F. (2005). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 6 Volume Set, Chapter.
- Shantha, N. C., & Decker, E. A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2), 421.
- Siger, A., nogala- kalucka, M., & lampart-szczapa E. (2008). The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*, 15(2), 137-149.
- Turchini, G. M., Ng, W. K., & Tocher, D. R. (Eds.). (2010). *Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds*. CRC Press.
- von Gadow, A., Joubert, E., & Hansmann, C. F. (1997). Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(3): 632-638.
- Wang, H., Liu, F., Yang, L., Zu, Y., Wang, H., Qu, S., & Zhang, Y. (2011). Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage. *Food Chemistry*, 128(1), 93-99.
- Wu, H.-C., Chen, H.-M., & Shiau, C.-Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36(9): 949-957.
- Zou, Kim, Y. n. A., Kim, A. R. n. A., Choi, J. E. n. A., Chung, J. S. n. A., & Young, H. (2002). Peroxynitrite Scavenging Activity of Sinapic Acid (3,5-Dimethoxy-4-hydroxycinnamic Acid) Isolated from *Brassica juncea*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21): 5884-5890.



Antioxidant activity of syringic and vanillic acids in Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion

N. Molaahmadibahraseman¹, R. Farhoosh^{*2}, S. Jhony³, A. Sharif⁴

Received: 2014.09.26

Accepted: 2015.04.23

Introduction: Medical benefits of omega-3 fatty acids have led to a lot of research on fish oil. Among marine fish, Kilka has the highest industrial applications. Kilka oil contains significant amounts of omega-3 fatty acids. In the present study, oxidative stability of Kilka fish oil based on the Schaal oven test and the use of two phenolic acid derivatives (syringic and vanillic acids) was investigated.

Materials and methods: Crude Kilka fish oil was supplied by Khazar company (Babolsar, Iran). All chemicals and solvents used in this study were of analytical reagent grade and purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Free radical scavenging activities of phenolic compounds was measured by reading the absorbance of methanolic solutions of the antioxidants containing 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) at 517 nm. The partition coefficient (log P) of the antioxidants was measured in terms of the maximal UV absorbance of aqueous (0.3 mM) and 50:50 aqueous/acetate buffer (0.1M, pH =5.5) solutions. In order to study the antioxidant activity in lipid systems, peroxide value of the chromatographically purified Kilka fish oil as well as its 10% oil-in-water emulsion containing 200 mg/kg of antioxidants was monitored at 55 °C.

Results and discussion: Syringic acid with two methoxy groups showed higher scavenging activity (IC₅₀) than vanillic acid with one methoxy group (54.2 vs. 418.2). Radical scavenging activity in phenolic acids had direct relationship with the type and number of electron donor groups on phenolic ring. Peroxide values changed exponentially. Despite the relatively high polarity (Log P = - 0.65) and high scavenging activity, the performance of syringic acid in Kilka fish oil was degraded as affected by inter-molecular interactions and was not in accordance with the "polar paradox" hypothesis. Antioxidant activity of syringic acid in emulsion increased significantly as compared with oil and it was similar to α -tocopherol. It was concluded that the type of emulsifier and also the way of emulsion preparation as compared with antioxidant had a more prominent role in the oxidative stability of Kilka fish oil.

Keyword: Antioxidant, Fish oil, O/W Emulsion, Phenolic acid, Polar paradox

1 and 3. Former Msc students, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.
2 and 4. Professor and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.

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

بررسی اثر ضد مخمری سویه های لاکتوباسیلوس پلانٹاروم جدا شده از مراحل مختلف تولید پنیر لیقوان بر مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا به عنوان شاخص فساد آبمیوه

ندا نیری^۱، محمدرضا عدالتیان^{۲*}، محمد باقر حبیبی نجفی^۳، معصومه بحرینی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۴/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۲۱

چکیده

هدف این تحقیق، بررسی اثر ضد مخمری سویه های لاکتوباسیلوس پلانٹاروم جدا شده از مراحل مختلف تولید پنیر لیقوان روی مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا/واریته موسیلوجینوسا (PTCC 5257) به عنوان عامل فساد مخمری آبمیوه و بررسی تاثیر فاکتورهای تکنولوژیکی مانند تاثیر دما، pH و بررسی تاثیر آنزیم پروتئیناز K بر خواص ضد مخمری سویه های مزبور است. بدین منظور از ۱۹ سویه، که ۳ سویه از شیر خام و ۸ سویه از دلمه و ۸ سویه از پنیر تازه لیقوان، استفاده شد. طیف فعالیت ضد مخمری، سویه ها توسط روش نقطه گذاری و روش نفوذ در چاهک تعیین شد، و به دنبال آن تعیین تاثیر فاکتورهای تکنولوژیکی یا فیزیکی شیمیایی مختلف از جمله درجه حرارت های (۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت، ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ و ۳۰ دقیقه، ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه (شرایط اتوکلاو)، pH های ۲ تا ۷ و اثر آنزیم پروتئیناز K. نتایج حاصل، نشان داد که سویه C28 دارای بالاترین خاصیت ضد مخمری در هر دو روش نقطه گذاری و نفوذ در چاهک بوده است، و با افزایش pH اثر ضد مخمری کاهش می یابد. در بررسی اثر دما، در شرایط اتوکلاو هیچ گونه هاله شفاف مشاهده نشد. تمامی جدایه های مورد بررسی در حضور آنزیم پروتئیناز K خاصیت ضد مخمری خود را از دست دادند. در نهایت، می توان اینطور فرض کرد که سویه های ایزوله شده از مراحل مختلف تولید پنیر لیقوان یا عصاره فاقد سلول آن ها، به عنوان نگهدارنده زیستی در سیستم های غذای بخصوص در سیستم های غذایی اسیدی مانند آبمیوه، بکار روند.

واژه های کلیدی: پنیر لیقوان، لاکتوباسیلوس پلانٹاروم، رودوتورولا موسیلوجینوسا، ضد مخمری

مقدمه

اخیراً، غذاهایی که در فرمولاسیون آن ها از نگهدارنده های شیمیایی استفاده شده، نگرانی مصرف کننده را بر می انگیزد و این نیاز را در صنعت ایجاد می کند که در جهت تولید غذاهای طبیعی و یا کمتر فراوری شده حرکت نماید. در نتیجه توجه صنعت غذا به استفاده از مواد ضد میکروبی طبیعی جلب گردیده، به همین دلیل استفاده از ضد میکروب های پپتیدی حاصل از باکتری های اسید لاکتیک (LAB) مورد توجه قرار گرفته است (Clevend et al., 2001).

بسیاری از گونه ها و سویه های موجود در طبیعت جهت حفظ موجودیت و یا موقعیت اکولوژیکی خود، سیستم های ضد میکروبی خود را در برابر عوامل عفونت زا و مهاجم توسعه داده اند. تولید پپتیدهای ضد باکتریایی بخشی از ایمنی ذاتی یا اولیه محسوب می شود که در بسیاری از گونه ها یافت می شود. پپتیدهای ضد میکروبی میزبان خود را توسط مکانیسم های مختلفی محافظت می کنند. معمولاً با ایجاد منفذ

در غشای سلول هدف، باعث نشست غیر قابل بازگشت مواد داخل سلولی و متعاقباً مرگ سلولی خواهند شد. پپتیدهای ضد میکروبی سمیت متفاوتی نشان می دهند (Nissen-Meyer & Nes, 1997).

پپتیدهایی که بصورت ریبوزومی سنتز می شوند و دارای ویژگی ضد میکروبی نیز هستند، توسط طیف گسترده ای از ارگانسیم های زنده، که شامل پروکاریوت ها تا یوکاریوت های عالی هستند، تولید می گردند. پپتیدهای ضد میکروبی که توسط ریبوزوم در باکتری ها تولید می شوند، باکتریوسین نام دارند (Papagianni, 2003).

بسیاری از میکروارگانسیم های موجود در آب میوه جات به عنوان آلوده کنندگان مواد خام یا محیطی محسوب می شوند اما تعداد معدودی از آنها می توانند در شرایط اسیدی و اکسیژن کم رشد کنند. این میکروارگانسیم ها به دلیل این که در دما و pH پایین می توانند رشد کنند، ممکن است سبب مشکلات متعددی در صنایع فوق الذکر شوند، از جمله سبب آسیب اقتصادی جدی به صنایع نوشیدنی و لبنی گردند (Crowly et al., 2012).

مخمرها، عمده ترین گروه میکروارگانسیم ها هستند که موجب فساد نوشابه های بدون الکل و آب میوه ها می شوند و در صورت رشد میکروارگانسیم ها و تولید فرآورده های متابولیکی جانبی مانند CO₂، اسید و ترکیبات فاسدکننده، فساد قابل رؤیت است (Ashurst,)

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۴- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد.

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

مواد و روش‌ها

برای بررسی اثر ضدخمیری سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم از مراحل مختلف تولید پنیر ليقوان (شیر، دلمه، پنیر تازه ليقوان)، از ۱۹ سویه لاکتوباسیلوس پلانتروم که قبلاً توسط تکنیک PCR (Polymerase Chain Reaction) با روش توالی‌یابی ژن 16S rRNA تا حد جنس و گونه شناسایی شده بودند، استفاده گردید (Edalatian, et al., 2012).

بدین منظور از مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا وارپته موسیلوجینوسا با PTCC 5257 به‌عنوان شاخص استفاده شد. جهت بررسی اثر ضدخمیری جدایه‌های مذکور در سطح محیط کشت از روش نقطه‌گذاری (Agar Spot) و برای بررسی اثر ضدخمیری مایع عاری از سلول (سوپرناتانت) جدایه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم از روش نفوذ در چاهک (Well Diffusion Assay) استفاده گردید.

تعیین میزان کلنی مخمر

بدین منظور بعد از کشت مخمرها در محیط کشت (PDB) Potato Dextrose Broth و سپری شدن زمان ۳-۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از اسپکتروفتومتر و محلول ۰/۵ مک فارلند میزان کلنی‌های مخمر تعیین گردید. بدین صورت که محلول ۰/۵ مک فارلند برابر با $10^6 \times 1-5$ کلنی مخمر در هر میلی‌لیتر می‌باشد (کمیته استانداردهای آزمایشگاه بالینی ۱۹۹۲).

آماده‌سازی سوپرناتانت فاقد سلول (CFS) Cell Free Supernatant

پس از کشت ایزوله‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم به مدت ۲۴ ساعت در MRS برات (مرک) با دور، $950 \times g$ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ (سیگما-آلمان) شدند و سپس جهت استریل کردن از فیلتر سرنگی ۰/۴۵ میکرومتر (استات سلولز) عبور داده شدند (Yang & Chang, 2010).

روش نقطه‌گذاری (Agar Spot)

از ایزوله‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم یک کلونی به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت MRS برات و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. پس از سپری شدن این مدت و ظهور کدورت در لوله‌های آزمایش، از هر ایزوله به میزان ۵ میکرولیتر در پلیت‌های حاوی MRS آگار (مرک) نقطه‌گذاری شدند، سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از این مدت، سطح پلیت‌ها با محیط کشت PDA حاوی آگار نرم (۷۵/۰ درصد آگار) که تلقیح شده با 10^6 کلنی مخمر به ازای هر میلی‌لیتر بود، در دو دمای ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد با دو تکرار قرار

مطالعات فراوانی مبنی بر تولید ترکیبات ضدباکتری به وسیله باکتری‌های اسیدلاکتیک وجود دارد. باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌توانند دامنه وسیعی از ترکیبات ضد میکروبی را تولید نمایند. این مواد، سایر باکتری‌های اسیدلاکتیک و نیز باکتری‌های پاتوژن و عوامل فساد ناشی از مواد غذایی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. از مواد ضد میکروبی تولید شده توسط این میکروارگانیسم‌ها می‌توان به متابولیت‌های اکسیژن‌زا، استالدهید، ایزومرهای D اسیدهای آمینه، دی استیل، رتوترین، اسیدهای آلی و باکتریوسین اشاره نمود (Dodd & Gasson, 1994 ; Lindgren & Dobrogosz, 1990 ; Yang & Chan, 2010 ; Stiles, 1996).

اما تعداد بررسی‌های صورت گرفته در زمینه اثر ضدقارچی باکتری‌های اسیدلاکتیک بسیار کم است. در سال‌های اخیر مطالعات اندکی درباره خصوصیات و ترکیبات ضدقارچی و مکانیزم آن‌ها وجود دارد (Yang & Chan, 2010).

Crowly و همکاران (۲۰۱۲) دو جدایه لاکتوباسیلوس پلانتروم از کلم ترش و آب چاه را بر روی استریتوکوکوس ترموفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، پی‌سیلیوم اکسیانسوم و رودوتورولا موسیلوجینوسا با روش چاهک بررسی نمودند. نتایج نشان داد که در طی ۹۶ ساعت کاهش قابل توجهی در تعداد مخمر رخ داد. نتیجه این بررسی نشان می‌دهد که مواد ضد میکروبی حاصله از باکتری‌های ذکر شده تاثیر ممانعت‌کنندگی قابل توجهی بر روی شاخص‌های باکتریایی و قارچی دارد.

El-Mabrok و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر ضدقارچی لاکتوباسیلوس پلانتروم ایزوله شده از میوه‌های مالزیایی را بر روی ژئوتریکوم گئوسپوریوم بررسی نمودند. ۳۰ نمونه باکتری‌های اسیدلاکتیک ایزوله شده از منابع مختلف را بر روی قارچ فوق‌الذکر با استفاده از روش نفوذ در چاهک و روش نقطه‌گذاری مورد پژوهش قرار دادند. نتایج نشان داد که بیشترین قدرت ضدقارچی مربوط به لاکتوباسیلوس پلانتروم API50CHL بود و اینکه سلول‌ها و سوپرناتانت‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک پتانسیل کاربرد به‌عنوان یک زیست‌نگهدارنده را بر علیه قارچ ذکر شده برای جایگزینی ضدقارچ‌های شیمیایی را دارند.

هدف اصلی این پژوهش، بررسی اثر ضدخمیری سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم جدا شده از مراحل مختلف تولید پنیر سنتی ليقوان بر روی مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا وارپته موسیلوجینوسا با PTCC 5257 به‌عنوان شاخص فساد آمیوه و بررسی فاکتورهای تکنولوژیکی مختلف بر روی اثر ضد میکروبی سوپرناتانت فاقد سلول این سویه‌ها، در سطح محیط کشت و یافتن موثرترین سویه مورد بررسی بر روی مخمر مزبور است.

داده شدند. پس از گذشت ۲۴-۴۸ ساعت، نقطه‌ها از لحاظ قطر هاله شفاف تشکیل شده در اطراف آنها، مورد بررسی قرار گرفتند (Rouse, et al., 2008).

روش نفوذ در چاهک (Well diffusion Assay)

در پلیت‌های حاوی محیط کشت PDA (۱/۵ درصد وزنی حجمی آگار) تلقیح شده به میزان 10^6 کلنی مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا به ازای هر ۲۰ میلی‌لیتر از این محیط کشت، چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر ایجاد شد. سپس در داخل هر یک از این چاهک‌ها، سوپرناتانت فاقد سلول باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم به میزان 10^6 میکرولیتر ریخته شدند. در مرحله بعد، پلیت‌ها بمنظور انتشار بهتر ترکیبات ضد میکروبی در آگار، به مدت ۱ ساعت در دمای یخچال قرار گرفتند و سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت پس از گذشت ۴۸ ساعت، پلیت‌ها و ایزوله‌ها از لحاظ قطر هاله شفاف در اطراف چاهک‌ها مورد بررسی قرار گرفتند (Yang & Chang, 2010).

آزمون‌های تکنولوژیکی

تاثیر pHهای مختلف بر مواد بازدارنده موجود در عصاره فاقد سلول جداپه‌ها

بدین منظور از pH ۲ الی ۷ (۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷) و برای تنظیم pH سوپرناتانت فاقد سلول از HCl و NaOH ۱ نرمال استفاده گردید. بدین صورت که پس از تهیه سوپرناتانت فاقد سلول به آن‌ها HCl و NaOH ۱ نرمال اضافه گردید (Wang et al., 2011). پس از تنظیم pH این سوپرناتانت‌ها، به میزان 10^6 میکرولیتر از سوپرناتانت به درون هر یک از چاهک‌های داخل پلیت‌ها ریخته شد. لازم به ذکر است که این پلیت‌ها حاوی محیط کشت PDA بودند که از قبل با 10^6 کلنی مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا به ازای هر ۲۰ میلی‌لیتر از PDA تلقیح شده بودند. پس از گذشت ۱ ساعت، پلیت‌ها درون انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قرار داده شدند. بمنظور نمونه شاهد از محیط کشت MRS برات بدون تلقیح باکتری با pHهای ذکر شده استفاده گردید (Wang et al., 2011). این روش برای هر ۱۹ ایزوله و با حداقل ۲ تکرار انجام گرفت. نتایج به‌وسیله اندازه‌گیری قطر هاله بازدارندگی بر حسب میلی‌متر و بصورت میانگین دو تکرار گزارش شدند.

تاثیر دماهای مختلف بر مواد بازدارنده موجود در عصاره فاقد سلول جداپه‌ها

جهت بررسی این تیمار از دماهای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ و ۳۰ دقیقه (Cardoso et al., 2012)، ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به

مدت ۱۵ دقیقه (شرایط اتوکلاو) (Rouse, et al., 2008)، ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت (Rouse, et al., 2008) استفاده گردید. سوپرناتانت فاقد عصاره یا CFE بدون هیچ‌گونه تیمار دمایی به‌عنوان نمونه شاهد به کار رفت. این سوپرناتانت‌ها، به میزان 10^6 میکرولیتر به درون چاهک‌هایی درون محیط کشت حاوی 10^6 رودوتورولا موسیلوجینوسا به ازای هر ۲۰ میلی‌لیتر از PDA ریخته شد. و پس از حدود ۱ ساعت درون انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قرار داده شد. این روش برای تمامی ۱۹ ایزوله و با حداقل ۲ تکرار انجام گرفت. نتایج به‌وسیله اندازه‌گیری قطر هاله بازدارندگی بر حسب میلی‌متر و به‌صورت میانگین دو تکرار گزارش شدند.

تاثیر آنزیم پروتئولیتیک بر مواد بازدارنده موجود در عصاره فاقد سلول جداپه‌ها

آنزیم پروتئیناز K، به سوپرناتانت فاقد سلول با غلظت نهایی ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر افزوده شد. نمونه کنترل MRS برات حاوی آنزیم و سوپرناتانت تیمار نشده عاری از سلول بودند. تمامی نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس آنزیم مورد نظر توسط حرارت در مای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه غیرفعال گردید. خاصیت ضد مخمری سوپرناتانت عاری از سلول در برابر مخمر شاخص، با روش نفوذ در چاهک مورد بررسی قرار گرفت (Ghraiiri, et al., 2005).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش، داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با آزمون فاکتوریل آنالیز شدند. برای آنالیز داده‌های مربوطه از نرم افزار Mini Tab (Version 16) استفاده گردید. مقایسه میانگین با نرم افزار MSTATC صورت گرفت. نمودارها با نرم افزار Excel ترسیم شدند. تمامی آزمایشات با دو تکرار صورت گرفتند.

نتایج و بحث

در جدول ۱، نتایج مربوط به اثر ضد مخمری ۱۹ ایزوله لاکتوباسیلوس پلانتاروم به روش نقطه‌گذاری بر روی مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا در دو درجه حرارت مختلف گرمخانه‌گذاری (۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) آورده شده است. نتایج به‌صورت میانگین دو تکرار از قطر هاله بازدارندگی گزارش شدند. بیشترین قطر هاله مربوط به نمونه C28 با قطر ۱۶ میلی‌متر و کمترین قطر هاله مربوط به نمونه LF 49 با قطر ۶ میلی‌متر می‌باشد.

جدول ۱- نتایج اثر ضد مخمری ۱۹ سویه لاکتوباسیلوس پلانناروم ایزوله شده از مراحل مختلف تولید پنیر لیقوان در روش نقطه گذاری بر روی مخمر رودوتورولا موسیویجینوسا به صورت قطر هاله بازدارندگی بر حسب میلی متر

جدایه	میانگین قطر هاله	
	دمای ۲۵ درجه سانتی گراد	دمای ۳۰ درجه سانتی گراد
M6	۴	۴
M8	۴	۴
M11	۴	۴
C22	۴	۴
C24	۴	۴
C25	۱۱/۵±۰/۷۰۷*	۱۲
C26	۱۱/۷۵±۰/۳۵۳	۱۳±۰/۷۰۷
C27	۱۰/۷۵±۰/۳۵۳	۱۲/۲۵ ±۰/۳۵۳
C28	۱۶±۱/۴۱	۱۶
C29	۶/۷۵±۱/۰۶	۷/۲۵±۱/۰۶
C30	۱۲±۱/۴۱	۱۳
LF47	۴	۴
LF48	۱۰/۵	۱۱±۰/۷۰۷
LF49	۶±۰/۳۵۳	۶
LF51	۴	۴
LF52	۱۰/۵	۱۰/۵±۰/۷۰۷
LF55	۱۰/۷۵±۰/۳۵۳	۱۱
LF56	۴	۴
LF57	۷±۰/۷۰۷	۷/۵±۰/۷۰۷

C مخفف Curd به معنی دلمه و LF مخفف Lighvan Fresh (پنیر تازه لیقوان) و M مخفف Milk (شیر) است.

* تمامی اعداد گزارش شده حاصل از مجموع قطر هاله شفاف و قطر نقطه ایجاد شده و بر حسب واحد میلی متر می باشند (قطر نقطه قرار داده شده ۴ میلی متر می باشد).

باکتری اسید لاکتیک و اسیداستیک موجود در محیط کشت MRS، می باشد (Cabo, et al., 2002). ولی اثر متقابل نوع جدایه ها و دماهای مورد بررسی تفاوت معنی داری نداشتند.

بسیاری از باکتری های اسید لاکتیک، فلاوپروتئین، NADH اکسیداز و پراکسیداز دارند که توانایی تولید هیدروژن پراکسید در حضور اکسیژن را دارا می باشند. برخی از محققین فعالیت ممانعت کنندگی هیدروژن پراکسید را به اثر اکسیداسیونی قوی سلول ها و تخریب ساختار مولکول های اصلی پروتئین ها نسبت می دهند (Davidson, et al., 1983; Condon, 1987). فعالیت ممانعت کنندگی یا اسیدی کردن سیتوپلاسم نیروی حرکتی پروتئین^۱، مستقیماً بر غشا و رشد سلول های مخمر موثر هستند (Gerez, et al., 2013). پژوهشگران معتقدند که مولکول اصلی در فعالیت ضدقارچی، پپتیدهایی با وزن مولکولی کمتر از یک کیلودالتون هستند

که در کل از بین ۱۹ ایزوله در ۱۱ ایزوله خاصیت ضد مخمری، هاله شفاف، مشاهده گردید.

همان طور که در جدول ۱ مشاهده می شود، در حدود ۶۰ درصد جدایه ها دارای خاصیت ضد مخمری هستند. تاثیر دماهای گرمخانه گذاری ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی گراد، روی قطر هاله ایجاد شده ناشی از اثر ضد مخمری ۱۹ جدایه لاکتوباسیلوس پلانناروم، معنی دار بود ($p < 0.05$)؛ بطوری که اکثراً در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قطر هاله بازدارندگی بیشتر از ۲۵ درجه سانتی گراد بوده است. این عامل می تواند به دلیل رشد بهتر مخمر در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نسبت به ۳۰ درجه سانتی گراد باشد و دیگر آنکه با توجه به مزوفیل بودن باکتری لاکتوباسیلوس پلانناروم، امکان رشد و تولید متابولیت توسط این باکتری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد نسبت به ۲۵ درجه سانتی گراد بیشتر امکان پذیر است (Edalatian, et al., 2012). محققان، پیشنهاد کرده اند که فعالیت ضدقارچی باکتری های اسید لاکتیک، به دلیل اثر سینرژیستی اسید لاکتیک تولید شده توسط

آسیژیلوس فلاووس، رایزوپوس استولونیفر و بوتریتیس سینرا را در خیار به تاخیر می‌اندازند (El-Mabrok, et al., 2013).

خواص ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک می‌تواند نسبت داده شود به دو عامل رقابت بر سر مواد غذایی و تولید ترکیبات بازدارنده مختلف از قبیل: اسیدهای آلی، باکتریوسین‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر ترکیبات مانند اتانول، پراکسید هیدروژن، دی‌اکسید کربن، دی‌استیل، استالیدی (Ouweland, 1998). در مورد فعالیت ضدقارچی لاکتوباسیلوس پلانتاروم، باید عنوان کرد که ترکیبات فعالی از قبیل: دی‌پپتیدهای حلقوی، هیدروکسی اسیدهای چرب، ۳- فنیل لاکتیک اسید و سایر ترکیبات با وزن مولکولی پایین عامل این خاصیت هستند (Strom 2005).

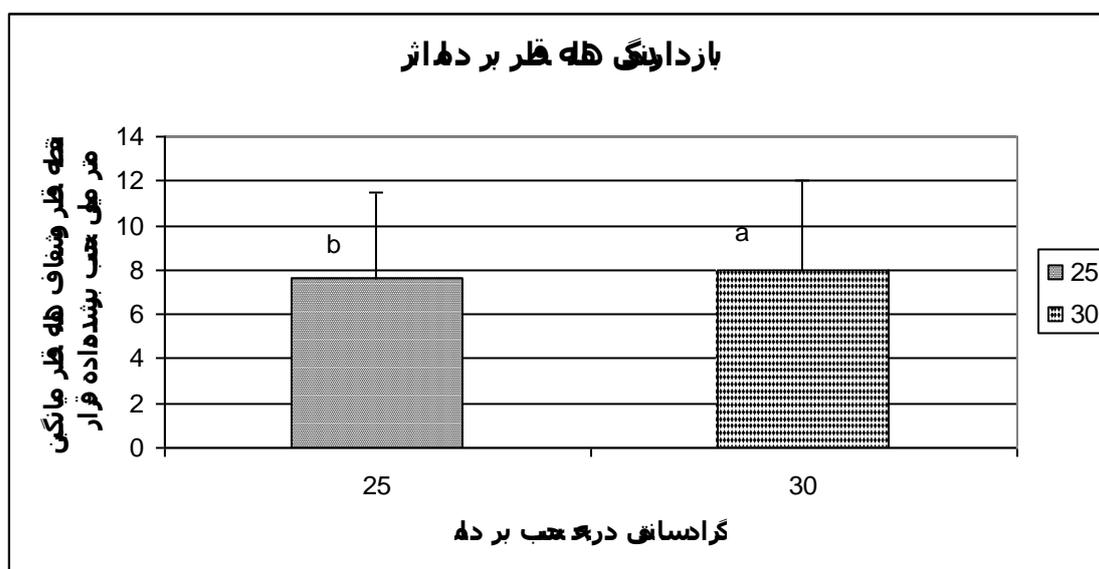
در جدول شماره ۲ نتایج مربوط به روش نفوذ در چاهک بر روی مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا آورده شده است. بیشترین قطر هاله مربوط به ایزوله C28 با قطر ۱۱ میلی‌متر و کمترین قطر هاله مربوط به ایزوله LF52 با قطر ۴ میلی‌متر بود.



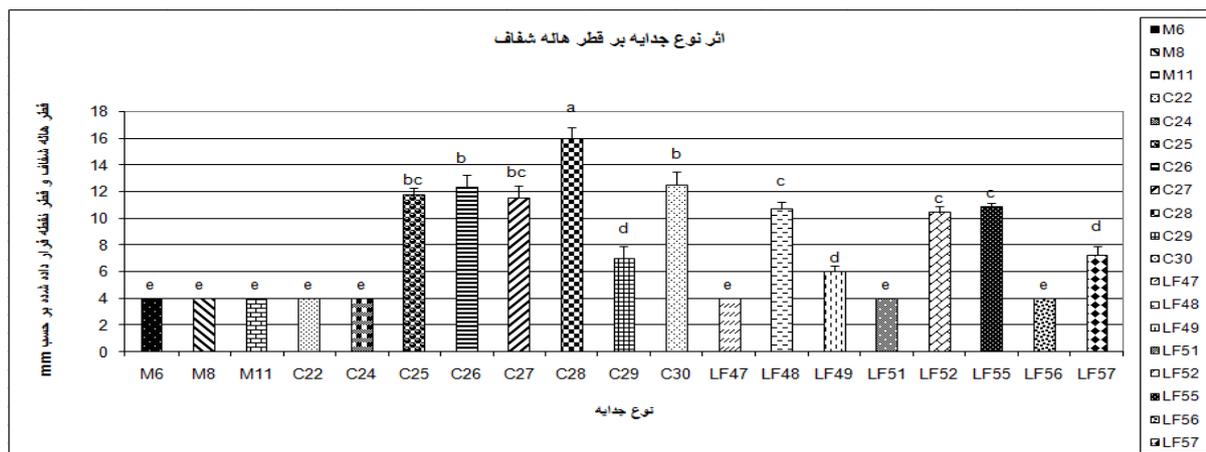
ب

الف

شکل ۱- نمونه شاهد مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا (الف) و جدایه‌هایی که بر آن خاصیت ضد مخمری دارند (ب)



شکل ۲- تاثیر دمای گرمخانه‌گذاری مورد استفاده در روش نقطه‌گذاری بر خاصیت ضد مخمری جدایه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم از نظر قطر هاله شفاف بر حسب میلی‌متر



شکل ۳- اثر نوع جدایه لاکتوباسیلوس پلاتناروم بر قطر هاله شفاف بر حسب میلی‌متر در روش نقطه‌گذاری

در مجموع، ۸ ایزوله از ۱۹ ایزوله در روش نفوذ در چاهک خاصیت ضدخمیری از خود نشان دادند.

حدود ۴۲ درصد جدایه‌های لاکتوباسیلوس پلاتناروم، دارای اثر بازدارندگی (هاله شفاف مشاهده شده در پلیت) بر روی مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا بوده‌اند.

در روش نفوذ در چاهک که نتایج آن در جدول (۲) آمده است در

جدول ۲- نتایج روش نفوذ در چاهک بر روی مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا

شماره ایزوله	میانگین قطر هاله در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد
M6	.
M8	.
M11	.
C22	.
C24	.
C25	۶/۲۵ ± ۰/۳۵۳*
C26	۶/۵ ± ۰/۷۰۷
C27	.
C28	۱۰ ± ۱/۴۱۴
C29	.
C30	۸
LF47	.
LF48	۵ ± ۰/۷۰۷
LF49	۴/۵ ± ۰/۷۰۷
LF51	.
LF52	۴
LF55	۵/۷۵ ± ۰/۳۵۳
LF56	.
LF57	.

*تمامی اعداد گزارش شده حاصل از تفاضل قطر هاله شفاف از قطر چاهک ایجاد شده و بر حسب واحد میلی‌متر می‌باشند.
C مخفف Curd به معنی دلمه و LF مخفف Lighvan Fresh (پنیر تازه لیقوان) و M مخفف Milk (شیر) است.

بزرگی مانند ATP می‌باشد. این موضوع نشان می‌دهد که سوپرناتانت یا عصاره فاقد سلول سبب اختلال در دیواره سلولی می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که برخی از ترکیبات محلول در سوپرناتانت ممکن است مسئول اثر بازدارندگی باشند (Hamed, et al., 2011) (Sathe, et al., 2007). در روش نفوذ در چاهک یا بررسی ترکیبات ضد میکروبی در محیط مایع یا براث عوامل مختلفی از جمله مواد بازدارنده موجود در پالیده کشت میکروبی (سوپرناتانت) مانند باکتریوسین‌ها و اسیدهای آلی مانند اسید لاکتیک مسئول ایجاد هاله شفاف بازدارندگی هستند. موارد دیگری مانند رتوتین، دی‌استیل، ایزومرهای D اسید آمینه و غیره نیز موثرند (Piard, et al., 1991). اسیدهای آلی تولید شده به وسیله باکتری‌های اسید لاکتیک با زنجیره کوتاه مانند اسید استیک و یا اسید لاکتیک عمده‌تاً برای تولید غذا به‌عنوان نگهدارنده ضد میکروبی در تولید غذاهای مختلف بکار می‌رود (Davidson, et al., 1990).

آنچه مشخص است این است که فرم اسید لاکتیک یونیزه نشده به غشای سیتوپلاسمی سلول نفوذ کرده و منجر به کاهش pH داخلی سلول و تخریب نیروی حرکتی پروتون Proton Motive Force (PMF) در غشای انتقالی شده و در نهایت سبب مرگ سلول و نیز جلوگیری از جوانه‌زنی مخمر خواهد شد (Crowly, et al., 2012).

عامل دیگر خاصیت ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک را می‌توان به خصوصیت چلاته‌کننده اسیدهای آلی مانند اسید لاکتیک، اسید استیک، اسید فرمیک و غیره دانست؛ که این اسیدها عناصر ضروری برای رشد، مانند آهن را چلاته می‌کنند و در نتیجه به‌عنوان یک عامل دیگر ممانعت‌کننده از رشد یاد می‌شود. در این بین اسید لاکتیک مهم‌ترین خاصیت ضد میکروبی را دارا می‌باشد (Sirgid, et al., 2006).

در تحقیقی که اوکازایا و همکاران (۲۰۰۵) بر خاصیت ضد مخمری لاکتوباسیلوس‌های ایزوله شده از پنیر ترکی پرداختند، نتایج نشان داد که لاکتوباسیلوس کازئی تا اندازه‌ای در به تعویق انداختن رشد مخمرها موثر است.

تحت شرایط خاصی برخی از لاکتوباسیل‌ها در اثر فعالیت لیپولیتیک خود ممکن است تولید اسید چرب کنند، فعالیت ضدقارچی اسیدهای چرب بستگی به طول زنجیره، غلظت و pH محیط دارد. فعالیت ضد میکروبی اسیدهای چرب ناشی از مولکول تفکیک نشده است، نه آنیون، زیرا pH تاثیر زیادی بر روی فعالیتشان ندارد ولی در pH پایین اثر کشندگی آنها افزایش می‌یابد (Yang, 2000).

فعالیت بازدارندگی لاکتوباسیلوس پلانتراروم در هر دو حالت سلول‌ها و سوپرناتانت گونه‌های ضدقارچی با مطالعات قبلی سازگار است (Lavermicocca, et al., 2000; Belal, et al., 2011)؛ (Gerez, et al., 2013).

همانطور که از نتایج روش نقطه‌گذاری و روش نفوذ در چاهک مشخص است در حدود ۶۰ درصد جدایه‌های لاکتوباسیلوس پلانتراروم در روش نقطه‌گذاری و ۴۲ درصد جدایه‌های لاکتوباسیلوس پلانتراروم در روش نفوذ در چاهک دارای اثر بازدارندگی (هاله شفاف مشاهده شده در پلیت) بر روی مخمر رودوتورولا موسیلوجینوزا بوده‌اند. بدین معنی که در روش نقطه‌گذاری که خود جدایه‌های لاکتوباسیلوس پلانتراروم و طبیعتاً متابولیت‌های تولید شده به‌همراه آن وجود دارد، اثر بازدارندگی بیشتری نسبت به زمانی که مایع عاری از سلول وجود دارد مشاهده گردیده است. بنابراین می‌توان اینطور نتیجه گرفت که این عامل احتمالاً در اثر وجود خود جدایه‌ها می‌باشد. یعنی خود جدایه‌ها نیز دارای اثر بازدارندگی بر روی رشد مخمر رودوتورولا موسیلوجینوزا داشته‌اند. معمولاً در روش نقطه‌گذاری عاملی که سبب ایجاد هاله شفاف بازدارندگی می‌شود مربوط به ترکیبات ضد میکروبی وابسته به کلنی^۱ مانند اسیدهای چرب و آب اکسیژنه که مسئول ایجاد خاصیت ضد میکروبی در محیط کشت جامد یا همان نقطه‌گذاری می‌باشند (Alegria, et al., 2010).

نکته قابل توجه این است که در هر دو روش (روش نقطه‌گذاری و روش نفوذ در چاهک) در جدایه‌های مربوط به شیر خام هیچ‌گونه خاصیت ضد مخمری مشاهده نشد، این در حالی است که ۵۰ درصد جدایه‌های مربوط به دلمه و ۵۰ درصد جدایه‌های مربوط به پنیر تازه لبقوان دارای خاصیت ضد مخمری بودند. پس می‌توان گفت که احتمالاً خاصیت ضدقارچی در حین فراوری و مراحل مختلف تولید پنیر لبقوان حاصل می‌گردد.

این عامل را می‌توان احتمالاً به دلیل اختلاف بین زیرگونه‌های مختلف باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتراروم مربوط دانست؛ چون در تعیین جدایه‌ها به روش توالی‌یابی PCR این باکتری‌ها تا حد گونه شناسایی شده‌اند و در نتیجه ممکن است اختلاف بین زیرگونه‌ها، سبب تفاوت در قطر هاله شفاف مشاهده شده توسط آن‌ها باشد. عدالتیان و همکاران (۲۰۱۱)، تنوع زیادی را در بین سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتراروم جدا شده از مراحل مختلف تولید پنیر لبقوان با کمک روش rep-PCR مشاهده و گزارش دادند.

Sharma و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر ضد کاندیدیایی باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتراروم سویه ۱۱۴ پرداختند. آنان به این نتیجه رسیدند که باکتریوسین‌ها سبب تخریب بیش از حد سلول‌های مخمر می‌شوند. آنان بیان کردند که بیشتر پپتیدهای کاتیونی مانند لاکتوفرین B و مشتقات لاکتوفرین B سبب اختلال در دیواره سلولی بر علیه کاندیدا آلبیکانس می‌شوند. آسیب دیواره سلولی به علت ایجاد نفوذپذیری بیشتر غشاء به کاتیون‌هایی مانند K^+ و ماکرومولکول‌های

لاکتوباسیلوس پلاتناروم ایزوله شده از مراحل مختلف تولید پنیر لبقوان آورده شده است. همانطور که ملاحظه می گردد بیشترین تاثیر در $pH=2$ و کمترین تاثیر در $pH=7$ مشاهده گردید.

این محققین گزارش داده اند که گونه هایی از باکتری های اسید لاکتیک توانایی ممانعت کنندگی از جوانه زنی کونیدی و رشد میسیلیوم را دارند.

در جدول شماره ۳ نتایج مربوط به تاثیر pH های مختلف روی فعالیت ضدخمیری سوپرناتانت فاقد سلول (CFS) جدایه های

جدول ۳- نتایج تاثیر pH های مختلف سوپرناتانت فاقد سلول ۱۹ ایزوله لاکتوباسیلوس پلاتناروم روی فعالیت ضدخمیری آنها

شماره جدایه	قطر نمونه شاهد	$pH=2$	$pH=3$	$pH=4$	$pH=5$	$pH=6$	$pH=7$
M6	.	3 ± 0.707^x	$2/5 \pm 0.707$
M8	.	3 ± 0.707	۳
M11	.	$3/5 \pm 0.707$	3 ± 0.707
C22	.	3 ± 0.707	$2/5 \pm 0.707$
C24	.	$3/5 \pm 0.707$	3 ± 0.707
C25	$6/25 \pm 0.353$	7 ± 0.707	$6/75 \pm 0.707$	$6/5$	6 ± 0.353	.	.
C26	$6/5 \pm 0.707$	$7/5 \pm 0.707$	7 ± 0.707	$6/25 \pm 0.353$	$6/5$.	.
C27	.	3 ± 0.707	2 ± 0.707
C28	$10 \pm 1/414$	$14/5 \pm 0.707$	$13 \pm 1/414$	12 ± 0.707	$10/5 \pm 0.707$	6 ± 0.707	.
C29	.	3 ± 0.707	۳
C30	۸	10 ± 0.707	9 ± 0.707	$8/5 \pm 0.707$	$7/5 \pm 0.707$	۳	.
LF47	.	3 ± 0.707	$2/5 \pm 0.707$
LF48	5 ± 0.707	$7/25 \pm 0.707$	$6/5 \pm 0.707$	6 ± 0.353	$5/5 \pm 0.353$.	.
LF49	$4/5 \pm 0.707$	$6/5 \pm 0.707$	$5/5 \pm 0.707$	5 ± 0.353	$2/5 \pm 0.353$.	.
LF51	.	$2/5 \pm 0.707$	2 ± 0.707
LF52	۴	$7/5 \pm 0.707$	$6/5 \pm 0.707$	4 ± 0.707	4 ± 0.353	.	.
LF55	$5/75 \pm 0.353$	9 ± 0.707	8 ± 0.707	$6/5 \pm 0.707$	5 ± 0.707	.	.
LF56	.	$3/5 \pm 0.707$	$2/5 \pm 0.707$
LF57	.	3 ± 0.707	2 ± 0.707

* تمامی اعداد گزارش شده حاصل از تفاضل قطر هاله شفاف از قطر چاهک ایجاد شده و بر حسب واحد میلی متر می باشند.

می یابد، به طوریکه در $pH=7$ هیچ گونه خاصیت ضدخمیری مشاهده نشده است. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج تحقیقی که بر روی خواص ضدقارچی جدایه های لاکتوباسیلوس از کومیس بر دو کپک پنی سیلیوم راکوفورتی و اسپرژیلوس نایجر انجام شده است، همخوانی دارد. به طوری که یافته های آنان نیز نشان می دهد که بیشترین فعالیت ضد قارچی در $pH=3-3/8$ مشاهده شد و با افزایش pH (از $3/8$ تا 7) قطر هاله شفاف حاصل از تاثیر بازدارندگی کاهش می یابد (Wang, et al., 2011) و همچنین نتایج حاصل، با نتایج پژوهش Valerio و همکاران (۲۰۰۹) که به بررسی فعالیت ضدقارچی باکتری های اسید لاکتیک جدا شده از گندم دوروم ایتالیایی بر روی کپک های پنسیلیوم روکوفورتی و اسپرژیلوس نایجر پرداخته بودند، مطابقت دارد، بطوری که در pH بالاتر از ۴، فعالیت ضدقارچی

نتایج تاثیر pH های مختلف مایع عاری از سلول جدایه های لاکتوباسیلوس پلاتناروم بر مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد که بیشترین تاثیر ضدخمیری در $pH=2$ وجود دارد بطوری که حتی جدایه هایی که در نمونه شاهد فاقد اثر ضدخمیری بودند در $pH=3$ و $pH=4$ خاصیت ضدخمیری از خود نشان دادند. این طور بنظر می رسد که بسیاری از مواد ضد میکروبی از جمله باکتریوسین ها و مواد شبه باکتریوسین بطور قابل ملاحظه ای نسبت به شرایط اسیدی در مقایسه با شرایط قلیایی مقاوم تر هستند. از نظر پایداری جدایه های لاکتوباسیلوس پلاتناروم مراحل مختلف تولید پنیر لبقوان نسبت به pH های متفاوت، کاملاً مشهود است که جدایه C28 در مقایسه با سایر جدایه ها نسبت به شرایط قلیایی مقاوم تر است؛ این طور بنظر می رسد که با افزایش pH ، اثر ضدخمیری کاهش

توجه جهت پتانسیل بکارگیری این سویه‌ها در محصولات اسیدی از جمله آبمیوه‌جات باشد.

در جدول ۴، نتایج مربوط به اثر دماهای مختلف بر روی مقاومت ترکیبات ضد میکروبی موجود در سوپرناتانت باکتری لاکتوباسیلوس پلاننتاروم بر مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا آورده شده است.

کاهش می‌یابد (Valerio, et al., 2009). نکته قابل توجه در مورد اثر pHهای مختلف بر فعالیت ضد مخمری جدایه‌های لاکتوباسیلوس پلاننتاروم این بود که این جدایه‌ها در pHهای اسیدی که اغلب در آبمیوه‌جات مشاهده می‌شود، فعالیت ضد مخمری بیشتری را بر مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا که عامل و شاخص فساد آبمیوه‌جات هستند، از خود نشان دادند. این امر می‌تواند یک نقطه قوت و قابل

جدول ۴- نتایج تاثیر دماهای مختلف بر روی قطر هاله بازدارندگی به‌عنوان شاخصی بر مقاومت ترکیبات ضد میکروبی موجود در سوپرناتانت فاقد سلول ۱۹ ایزوله لاکتوباسیلوس پلاننتاروم بر مخمر رودوتورولا موسیلوجینوسا بر حسب میلی‌متر

شماره جدایه	نمونه شاهد (حرارت ندیده)	قطر هاله بازدارندگی در شرایط ذیل بر حسب میلی‌متر			
		۸۰°C - ۶۰ دقیقه	۱۰۰°C - ۱۰ دقیقه	۱۰۰°C - ۳۰ دقیقه	۱۲۱°C - ۱۵ دقیقه
M6
M8
M11
C22
C24
C25	۶/۲۵ ± ۰/۳۵۳*	۴/۵ ± ۰/۷۰۷	۵/۲۵ ± ۰/۷۰۷	۴/۷۵ ± ۰/۷۰۷	.
C26	۶/۵ ± ۰/۷۰۷	۴/۲۵ ± ۰/۷۰۷	۳/۵ ± ۰/۷۰۷	۳	.
C27
C28	۱۰ ± ۱/۴۱۴	۸ ± ۰/۷۰۷	۹ ± ۰/۷۰۷	۷/۵ ± ۰/۷۰۷	.
C29
C30	۸	۵/۵ ± ۰/۷۰۷	۶ ± ۰/۷۰۷	۴/۷۵ ± ۰/۷۰۷	.
LF47
LF48	۵ ± ۰/۷۰۷	۳/۵	۴ ± ۰/۳۵۳	۳/۷۵ ± ۰/۳۵۳	.
LF49	۴/۵ ± ۰/۷۰۷	۳ ± ۰/۳۵۳	۳/۷۵	۳/۵ ± ۰/۷۰۷	.
LF51
LF52	۴	۳ ± ۰/۷۰۷	۳/۵ ± ۰/۷۰۷	۳ ± ۰/۷۰۷	.
LF55	۵/۷۵ ± ۰/۳۵۳	۴ ± ۰/۷۰۷	۵ ± ۰/۷۰۷	۴/۵ ± ۰/۷۰۷	.
LF56
LF57

* تمامی اعداد گزارش شده حاصل از تفاضل قطر هاله شفاف از قطر چاهک ایجاد شده و بر حسب واحد میلی‌متر می‌باشند.

سانتی‌گراد) به حرارت حساس شده و خاصیت خود را از دست می‌دهند. این مقاومت نسبی به حرارت نشان می‌دهد که در مایع عاری از سلول ترکیباتی با وزن مولکولی کم وجود دارد (Wang, et al., 2011). نتایج مطالعه حاضر با نتایج حاصل از پژوهش Cardoso و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد. آنان به بررسی اثر ضد میکروبی مایع عاری از سلول اتروکوکوس فکالیس بر روی مخمرها، قارچ‌ها و باکتری‌ها پرداختند و بیان کردند که با افزایش دما و یا افزایش زمان حرارت‌دهی، اثر ضد میکروبی کاهش می‌یابد (Cardoso, et al., 2012). نکته کاربردی و قابل توجه در مورد اثر درجه حرارت‌های مختلف این است تمام جدایه‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد که شرایط استریل کردن در اتوکلاو می‌باشد، خاصیت ضد مخمری خود را

نتایج تاثیر مایع عاری از سلول (CFE) در تیمارهای مختلف درجه حرارت بر فعالیت ضد مخمری رودوتورولا موسیلوجینوسا (جدول ۴) نشان داد که در بکارگیری دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه تمامی جدایه‌ها خاصیت ضد مخمری خود را از دست داده‌اند. نکته قابل تامل دیگر آن است که قطر هاله بازدارندگی در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بیشتر از قطر هاله بازدارندگی در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه بوده است. این نشان می‌دهد که مقاومت حرارتی در یک دمای ثابت (دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) در زمان ۳۰ دقیقه کمتر از زمان ۱۰ دقیقه بوده است. در نتیجه ترکیبات ضد میکروبی و شبه باکتریوسینی با افزایش دما و یا افزایش زمان در صورت اعمال حرارت (در این جا ۱۰۰ درجه

نبودند. می‌توان به این نتیجه رسید که ترکیبات ضدخمیری تولید شده توسط این جدایه‌ها احتمالاً دارای ماهیت پروتئینی بودند. این نتایج با یافته‌های Cardoso و همکاران (۲۰۱۲) و Rouse و همکاران (۲۰۰۸) همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری

بطور خلاصه در این پژوهش بمنظور بررسی اثر ضدخمیری جدایه‌های لاکتوباسیلوس پلاتناروم مورد نظر با استفاده از روش نقطه‌گذاری و روش نفوذ در چاهک استفاده شد و تاثیر هر کدام از متغیرهای تکنولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش pH اثر ضدخمیری کاهش می‌یابد بطوری که بیشترین تاثیر ضدخمیری در ۲ و ۳ pH وجود داشت. با افزایش دما و یا افزایش زمان حرارت‌دهی، کاهش اثر ضدخمیری مشاهده شد، بطوری که در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه هیچ‌گونه اثر ضدخمیری مشاهده نشد. در حضور آنزیم پروتئیناز K هیچ کدام از جدایه‌ها از خود خاصیت ضدخمیری نشان ندادند.

از دست داده‌اند، ولی در صنعت آبمیوه‌جات و نوشیدنی‌های اسیدی که خطر آلودگی به مخمرهایی از قبیل رودوتورولا موسیلوجینوسا وجود دارد، از این فرایند حرارتی شدید استفاده نمی‌شود، بلکه از دماهای پایین‌تر مانند دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد یا کمتر برای پاستوریزاسیون آبمیوه جات استفاده می‌شود. این نکته، احتمال بکارگیری این جدایه‌ها یا سوپرناتانت آنها را در مواد غذایی اسیدی مانند آبمیوه‌جات، که نیاز به فرایندهای حرارتی شدید و بالای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد ندارند، را تقویت می‌بخشد.

جهت تعیین حضور باکتریوسین یا تایید ماهیت پروتئینی ترکیبات ضد میکروبی موجود در سوپرناتانت فاقد سلول، از اثر آنزیم پروتئیناز K بر فعالیت ضدخمیری این جدایه‌ها استفاده گردید. همانطور که قبلاً ذکر شده بود باکتریوسین‌ها ماهیت پروتئینی دارند.

قابلیت بازدارندگی سوپرناتانت جدایه‌هایی که دارای خاصیت ضدخمیری بودند در مجاورت آنزیم پروتئیناز K پس از یک ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به طور کامل از بین رفت، جدایه‌های LF52, LF49, LF48, C30, C28, C26, C25 و LF55 هیچ یک دارای خاصیت بازدارندگی بر مخمر رودوتورولا

منابع

- Alegría, Á., Delgado, S., Rocés, C., López, B., & Mayo, B., 2010, Bacteriocins produced by wild *Lactococcus lactis* strains isolated from traditional, starter-free cheeses made of raw milk, *International Journal of Food Microbiology*, 143, 61–66.
- Ashurst, P.R., 2005, Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices 2nd ed. *Blackwell Publishing*, pp.57-62.
- Belal, J.M. & Zaiton, H., 2011, Antifungal activity of *Lactobacillus fermentum* Te007, *Pediococcus pentosaceus* Te010, *Lactobacillus pentosus* G004, and *L. paracasi* D5 on selected foods. *Journal of Food Science*, 76, 493-499.
- Cabo, M.L., Braber, A.F. & Koenraad, P., 2002, Apparent antifungal activity of several lactic acid bacteria against *Penicillium discolor* is due to acetic acid in the medium. *Journal of Food Protection*, 65, 1309-1316.
- Cardoso, M., Manzo, R., Tonarelli, G., & Simonetta, A., 2012, Characterisation of a Cell free supernatant obtained from cultures of *Enterococcus faecalis* DBFIQ E24 with antagonistic activity against bacteria, yeast and moulds, *International Journal of Dairy Technology*, 65, 568-577.
- Carla, L. G., Maria, I. T., Graciela, R., & Graciela, F.V., 2009, Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*, 20, 144-148.
- Cleveland, J., Montviie, T.J., Nes, I.F. & Chikindas, M.L., 2001, Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71(1), 1-20.
- Condon, S., 1987, Responses of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiology Reviews* 46, 269–280.
- Crowly, S., Mahony, J., & Van Sinderen, D., 2012, Comparative analysis of two antifungal *Lactobacillus plantarum* isolates and their application as bioprotectants in refrigerated foods. *Journal of Applied Microbiology*, 113, 1417-1427.
- Davidson, P.M., & Juneja, V.K., 1990, Antimicrobial agents. In: Branan, A.L., Davidson, P.M., Salminen, S. (Eds.), *Food Additives*. *Marcel Dekker, Inc.*, New York, pp. 1–9.
- Davidson, P.M., Post, L.S., Branan, A.L., McCurdy, A.R., 1983, Naturally occurring and miscellaneous foods antimicrobials. In: Davidson, P.M., Branan, A.L. (Eds.), *Antimicrobials in Foods*. *Marcel Dekker Inc.*, New York, pp. 385–392.
- Dodd, H.M., & Gasson, M.J., 1994, Bacteriocins of lactic acid bacteria. In: Gasson, M.J., deVos, W.M. (Eds.), *Genetics and Biotechnology of Lactic Acid Bacteria*, Blackie Academic and Professional, London, 211–251.
- Edalatian, M.R., Habibi Najafi, M.B., Mortazavi, S.A., Alegria, A., Nassiri, M.R., Bassami, M.R., & Mayo, B., 2012, Microbial diversity of the traditional Iranian cheeses Lighvan and Koozeh, as revealed by polyphasic culturing and culture-independent approaches, *Dairy Science and Technology*, 92, 75-90.

- El-Mabrok , A. S. W., Hassan, Z. , Mokhtar, A. M. , & Hussin, K. M. A. , 2013 , Antifungal Activity of *Lactobacillus plantarum* LAB-C5 and LAB-G7 Isolated from Malaysian Fruits , *Acta Biologica Malaysiana*, 2(1): 22-30.
- Gerez ,C.L., Torres, M.J. , . Font de Valdez , G., & Rollan ,G., 2013, Control of spoilage fungi by lactic acid bacteria. *Biological Control*, 64 , 231–237 .
- Ghraiiri, T., Frè`re , J., Berjeaud, J.M., & Manai, M., 2005, Lactococcin MMT24, a novel two-peptide bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* isolated from rigouta cheese. *International Journal of Food Microbiology* 105, 389–398.
- Hamed, H. A., Yomna, A. M., & Shadia, M. A., 2011, In vivo efficacy of lactic acid bacteria in biological control against *Fusarium oxysporum* for protection of tomato plant. *Life Science Journal*, 8, 462-468.
- Lavermicocca, P., Valerio, F., Evidente, A., Lazzaroni, S., Corsetti, A., & Gobetti, M., 2000, Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 4084-4090.
- Legan, J. D. , 1993, Mould spoilage of bread: the problem and some solutions. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 32, 33-53.
- Lindgren , S.E., & Dobrogosz , W.J., 1990, Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations , *FEMS Microbiology Reviews*, 87, 149–164.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard. 2nd ed. M27-A2. Wayne, PA: NCCLS; 1992.
- Nissen-Meyer , J., & Nes, I.F., 1997, Ribosomally synthesized antimicrobial peptides:their function , structure, biogenesis and mechanism of action . *Archives of Microbiology*, 167:67-77.
- Ouwehand, A. C. (1998) Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In *Lactic Acid Bacteria Microbiology and Functional Aspects* ed. Salminen, S. and von Wright, A. pp. 139–159. New York: Marcel Dekker. Inc.
- Ozkaya, F., Karabicak, N., Kayali, R., & Esen, B., 2005, Inhibition of yeast isolated from traditional Turkish Cheeses by *Lactobacillus* spp., *International Journal of Dairy Thechnology*,58(2), 111-114.
- Papagianni, M., 2003, Ribosomally synthesized peptides with antimicrobial properties: biosynthesis, structure, function , and applications. *Biotechnology Advances* , 21, 465-499.
- Piard ,J., & Desmazeaud ,C., 1991, Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 1.Oxygen metabolites and catabolism end-products , *Lait*,71(5),525-541.
- Rouse, S., Harnett, D., Vaughan, A., & Sinderen, D. van., 2008, Lactic acid bacteria with potential to eliminate fungal spoilage in foods. *Journal of Applied Microbiology* 104, 915–923.
- Sathe, S., Nawani, N., Dhakephalkar, P., & Kapadnis, B., 2007, Antifungal lactic acid bacteria with potential to prolong shelf-life of fresh vegetables. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 2622-2628.
- Sharma, A., & Srivastava, S., 2013, Anti-Candida activity of spent culture filtrate of *Lactobacillus plantarum* strain LR/14. *Journal de Mycologie Médicale*, 440, No. of pages 10.
- Sirgid , C.J. , Tine , L.A., Desair , J. , Marchal , K. , Vanderleyden , J. , & Naggy , I. , 2006 , Strong antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG against , *Salmonella typhimurium* is due to accumulation of lactic acid , *FEMS Microbial Lett* , 259 , 89- 96.
- Stiles , M.E. , 1996 , Biopreservation by lactic acid bacteria , *Antonie van Leeuwenhoek* ,70, 331–345.
- Strom, K. (2005) *Fungal Inhibitory Lactic Acid Bacteria*. PhD Thesis: Swedish University of Agricultural Sciences .
- Valerio ,F.,Favilla ,M. , De Bellis, P., & Sisto, A., 2009 , Antifungal activity of strains of lactic acid bacteria isolated from a semolina ecosystem against *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus niger* and *Endomyces fibuliger* contaminating bakery products , *Systematic and Applied Microbiology*, 32 , 438–448.
- Wang, H., Shi, J., Zhang, H., & Qi, W., 2011, A survey of some antifungal properties of lactic acid bacteria isolates from koumiss in China, *International Journal of Dairy Technology*, 64,585-590.
- Yang , E.J. , & Chan, H.C., 2010, Purification of a new antifungal compound produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi , *International Journal of Food Microbiology* , 139 , 56-63.
- Yang, Z., 2000, Anti microbial compounds and extracellular polysaccharides produced by Lactic Acid Bacteria: structures and properties,Ph.D thesise , University of Helsinki .

Study the effect of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from different stages of production Lighvan cheese on *Rodotorula mucilaginosa* as a spoilage indicator in fruit juice

N. Nayyeri¹, M. R. Edalatian^{*2}, M. B. Habibi Najafi³, M. Bahreyni⁴

Received: 2014.07.07

Accepted: 2015.05.11

Introduction: Nowadays, attention to foods free from chemical preservatives is on the rise. Recently, consumers have concerned about foods containing these preservatives in their formulation. Therefore, the use of antimicrobial peptides produced by Lactic acid bacteria (LAB) are strongly highlighted. Ribosomally-synthesized peptides, which possess antimicrobial properties, are produced by a vast range of organisms including prokaryotes and Eukaryotes.

Yeasts are the most important microorganisms which are responsible for fruit juice and soft drink spoilage. In case of growth and production of by-products like CO₂, acid and other contaminants, the spoilage will be visible.

Lactic acid bacteria isolated from natural, local sources such as dairy products have presented potentially antifungal features against food spoilage fungi. Among these, *Rodotorula* and *Penicillium* are regarded as the most critical genera in fruit juice spoilage.

The main objective of this study was the evaluation of anti-yeast activity of *Lactobacillus plantarum* isolates from different stages of Lighvan production against *Rodotorula mucilaginosa* as fruit juice spoilage indicator. In the next step, technological parameters effects were analyzed on antimicrobial potential of cell-free supernatant of these isolates. Finally, we aimed at finding the most effective isolate on aforementioned yeast.

Materials and methods: Nineteen *Lb. plantarum* isolates, which were identified previously, were subjected to antifungal assay. For this purpose, *Rodotorula mucilaginosa* PTCC 5257 was selected. Agar spot and Well Diffusion Assay (WDA) were applied for antifungal assay in solid and liquid media, respectively. Determination of yeast colony: Following the cultivation of yeasts in Potato Dextrose Broth, it was determined using Spectrophotometer.

Preparation of *Lb. plantarum* cell-free supernatant (CFS) was carried out. In agar spot method, clear zones of inhibition around the spotted colonies were evaluated after 24-48h incubation. In WDA, CFS of *Lb. plantarum* isolates were poured in wells and clear zones were evaluated around each well after 24-48 h incubation.

Technological properties: The influence of different levels of pH (2, 3, 4, 5, 6, and 7) was analyzed on CFS of *Lb. plantarum* isolates. This assay was done according to Wang et al., 2011. Finally, results were reported using the measurement of clear zone diameter in mm. All experiments were performed in duplicates.

The effects of various temperatures were applied on CFS and remaining the antifungal activity was evaluated according to Rouse et al., 2008. Finally, all CFS of *Lb. plantarum* isolates were subjected to Protienase K and antifungal properties of CFS were assayed by WDA according to Ghrairi et al., 2005.

Results and discussion: Agar spot results showed the highest and lowest clear zone of inhibition related to C28 and LF49 with 16 and 6 mm diameter, respectively. In this method, 11 out of 19 isolates (60%) presented anti-yeast activity with clear zone formation. In comparison between two incubation temperatures (25 and 30°C), all isolates stronger clear zone in 30°C than in 25°C. This was due to enhancement of yeast growth in 25°C rather than in 30°C. Also, with respect to the mesophilic nature of *Lb. plantarum* isolates, the possibility of metabolite production are more likely in 30°C. It was reported that antifungal activity of LAB is mostly due to synergistic effect of lactic acid and acetic acid. In agar spot, some colony-associated antimicrobial compounds are responsible for antifungal activity.

In WDA, 8 out of 19 isolates (42%) were positive for their inhibitory effects. The highest anti-yeast activity

1, 2 and 3. Former M.Sc. Student, Assistant Professor and Professor, Department of Food science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashad.

4- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad.

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

was seen at pH=2. It seems that antimicrobial compounds are likely more stable at acidic conditions than at alkaline ones. Among isolates, C28 presented the highest stability at alkaline conditions. With pH increase, the antifungal activity decreased so that no anti-yeast activity was seen at pH=7. Regarding the different temperatures, we should mention that thermal resistance of isolates' CFS witnessed declining trend with increasing of temperature. This fact implies the presence of low- molecular weight compounds in CFS. Finally, all isolates' CFS was subjected to proteinase K. All isolates have lost their anti-yeast activity after enzyme treatment showing their proteinaceous nature.

Conclusion: In WDA, the number of positive isolates showing anti-yeast activity declined in comparison with agar spot. Since some isolates retain their inhibitory activity toward food spoilage yeast at low pH, their CFS can be applied in acidic foods like fruit juice. Also, some isolates showed their antifungal activity at high temperatures (80C and 100C) which are applied for fruit juice pasteurization, so they can be applied in fruit juices as a bio-preservative.

Keywords: Lighvan cheese, *Lactobacillus plantarum*, anti-yeast, *Rodotorula mucilaginosa*.

بررسی ویژگی‌های کلوئیدی نانولیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن تولید شده به روش حرارتی

بابک قنبرزاده^{۱*}، صحرا بشیری^۲، حامد همیشه‌کار^۳، جلال دهقان‌نیا^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۰۲

چکیده

ریزپوشانی مواد غذا- دارو در حامل‌های لیپیدی، از جمله لیپوزوم‌ها، منجر به افزایش قابلیت زیست‌فراهمی مواد فعال، رهایش کنترل شده و دقیق آن‌ها، حفظ پایداری آن‌ها در برابر شرایط مختلف محیطی و حلالیت مواد فعال آبریز در محیط آبی می‌شود. از جمله ترکیبات مغذی آبریز با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و پروویتامینی مفید، بتاکاروتن می‌باشد که خاصیت آبریزی این ماده و نیز حساسیت بالا در شرایط مختلف محیطی کاربرد آن را برای غنی‌سازی مواد غذایی محدود کرده است. هدف از انجام این پژوهش تولید و بررسی نانولیپوزوم‌های حامل بتاکاروتن به روش گرمایی اصلاح یافته (مظفری اصلاح شده) و بررسی ویژگی‌های مهم کاربردی آن بود. اندازه ذرات نانولیپوزوم‌های حامل بتاکاروتن در غلظت‌های مختلف لستین، کوچک‌تر از ۵۰۰ نانومتر به دست آمد و برای غلظت‌های بهینه لستین، ۸۴-۶۴ نانومتر تعیین شد. استفاده از فیتواسترول (گاما‌اوریزانول)، جهت حفظ پایداری غشای سیستم‌های لیپوزومی، موجب کاهش اندازه ذرات در غلظت‌های مختلف لستین گردید بطور مثال در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم لستین اندازه ذرات از ۸۸ نانومتر به ۶۴ نانومتر کاهش یافت. همچنین گاما‌اوریزانول مورد استفاده در لیپوزوم، روی کارایی ریزپوشانی بتاکاروتن موثر نبود و در هر دو سیستم کارایی حدود ۸۹ درصد محاسبه شد. پایداری لیپوزوم‌های بدون گاما‌اوریزانول و حاوی آن، بر اساس پتانسیل زتا که معیاری برای دافعه الکترواستاتیک و پایداری است، مناسب بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: نانولیپوزوم، بتاکاروتن، ویژگی‌های کلوئیدی

مقدمه

نانو ریز پوشانی نسبت به سیستم‌های میکرو ریز پوشانی^۶ مفیدترند (Horn & Rieger, 2001; Yurdugul *et al*, 2004; Weiss *et al*, 2006; Fathi *et al*, 2011). نانوحامل‌های^۷ مورد استفاده در فرآوری مواد غذایی را می‌توان به دو دسته نانوکپسول‌های بیوپلیمری و نانوکپسول‌های لیپیدی تقسیم کرد. نانوحامل‌ها بر پایه لیپیدی شامل نانومولسیون‌ها^۸، نانولیپوزوم‌ها و نانوذرات لیپیدی جامد^۹ می‌باشند (Fathi *et al*, 2011). لیپوزوم‌ها یکی از حامل‌های لیپیدی هستند که توسط لیپیدهای قطبی تولید می‌شوند. این دسته نانو حامل‌ها، دارای ساختار غشای دو لایه‌ای (با گروه‌های سر قطبی در سطح داخلی و گروه‌های دم لیپوفیلیک به طرف مرکز غشاء) بوده و بنابراین می‌توانند هم ترکیبات آبدوست و هم آبریز را در محیط آبی و لیپیدی خود جای دهند (Keller, 2001).

از روش‌های تولید نانولیپوزوم‌ها، روش حرارتی اصلاح یافته را می‌توان نام برد که این روش نسبت به روش‌های دیگر دارای مزیت-

ریزپوشانی^۵ در مقیاس نانو روشی است که موجب حفاظت بیشتر مواد حساس، زیست‌فراهمی بیشتر آن‌ها، انحلال مواد آبریز در محیط‌های آبی، حفاظت اثرات طعمی و رنگی مواد زیست‌فعال و رهایش کنترل شده این مواد می‌شود (Keller, 2001; Mozafari *et al*, 2008). با کاهش اندازه ذرات از میکرو به مقیاس نانو و در نتیجه افزایش نسبت سطح به حجم، ویژگی‌های مختلف مواد از جمله قابلیت دسترسی زیستی، حلالیت در آب، پایداری کلوئیدی و شفافیت محلول‌های حاوی نانوذره افزایش می‌یابد و به این دلایل، سیستم‌های

۱ و ۴- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز.

۳- دانشیار، گروه داروسازی، مرکز تحقیقات داروسازی تبریز، دانشگاه تبریز.

*- نویسنده مسئول (Email: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir)

5 Encapsulation

6 Micro encapsulation

7 Nano carrier

8 Nano Emulsion

9 Solid Lipid Nano particle

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

فسفاتیدیل کولین از شرکت ACROS ORGANICS بلژیک و بتاکاروتن از شرکت SIGMA-ALDRICH آمریکا تهیه شدند. پلی اتیلن گلیکول^۱ از شرکت مواد شیمیایی مرک آلمان و نیز گاما اوریزانول از شرکت Tsuno Rice Chemicals ژاپن خریداری شدند.

تهیه محلول بتاکاروتن

در این تحقیق، حلالیت بتاکاروتن در حلال‌های مختلفی بررسی شد. در این راستا، ۴ میلی گرم بتاکاروتن در ۱۰ میلی لیتر پروپیلن گلیکول، ۱۷ میلی لیتر پلی اتیلن گلیکول ۳۰۰ نامحلول بوده ولی در ۱۴ میلی لیتر پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ درجه سانتی گراد با دور ۴۰۰ rpm حل گردید و محلول شفاف نارنجی رنگ بدست آمد.

روش تهیه نانولیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن

ابتدا غلظت‌های مختلف لستین (۲۰، ۴۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی گرم) هیدراته شده بوسیله ۲ میلی لیتر آب دو بار تقطیر که در فاز آبی تشکیل میسول می‌دهند، به محلول ۴ میلی گرم بتاکاروتن که قبلاً در ۱۴ میلی لیتر پلی اتیلن گلیکول حل شده بود، افزوده شد. مخلوط حاوی محلول بتاکاروتن و لستین به بشر ۳۰۰ میلی لیتر مقاوم به حرارت حاوی بافل (ایجاد جریان توربلانت)، منتقل و ۱۴ میلی لیتر حلال پلی اتیلن گلیکول دیگر نیز به آن اضافه شد. مخلوط مورد نظر با ۴۰ میلی لیتر آب مقطر به حجم رسانده شد و با دستگاه مخلوطکن مدل RER شرکت IKA کشور آلمان با دور ۱۴۰۰ rpm به مدت ۱ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد همزده شد. به منظور پایداری محلول لیپوزومی بدست آمده، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و سپس در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد (Mozafari *et al.*, 2011, Mozafari *et al.*, 2008, Mozafari *et al.*, 2006).

روش تهیه نانولیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن و فیتواسترول

(گاما اوریزانول)

غلظت‌های مختلف لستین (۲۰، ۴۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی گرم) هیدراته شده در ۲ میلی لیتر آب دو بار تقطیر به محلول بتاکاروتن (۴ میلی گرم در ۱۴ میلی لیتر پلی اتیلن گلیکول)، افزوده و به بشر ۳۰۰ میلی لیتر مقاوم به حرارت حاوی بافل (ایجاد جریان توربلانت)، منتقل و ۱۴ میلی لیتر حلال پلی اتیلن گلیکول دیگر نیز به آن اضافه شد. مخلوط حاصل زیر همزدن با دور ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. سپس، محلول گاما اوریزانول (با نسبت ۱ به ۱۴

هایی از جمله، عدم استفاده از حلال‌های سمی، عدم نیاز به تجهیزات مختلف (تبخیرکننده، فراصوت، همگن‌سازی در فشار بالا و اکستروژن) و تولید سریع لیپوزوم‌ها با درصد ریز پوشانی بالا می‌باشد (Mozafari, 2005; Mozafari, 2010; Rasti *et al.*, 2012). در سال‌های اخیر، به منظور توسعه غذاهای فراسودمند، تولید غذاهای مغذی یا بهبود ماندگاری مواد غذایی، تلاش‌های تحقیقات گسترده‌ای برای درون‌پوشانی ترکیبات زیست فعال غذایی مختلف توسط لیپوزوم‌ها انجام گردیده است (Sagalowics *et al.*, 2010) که می‌توان برای مثال به ریزپوشانی ترکیبات آبریزی از جمله کوآنزیم ۱۰ و آلفا توکوفرول (Zhang *et al.*, 2009)، کاروتنوئیدها (Nacke *et al.*, 2011)، ویتامین C، D، استتاریک اسید و استتارات کلسیم (Marsanasco *et al.*, 2011)، اسیدهای چرب امگا ۳ (Rasti *et al.*, 2012)، آستاگزانتین (Anarjan *et al.*, 2012)، اسید چرب اولئیک (Tan *et al.*, 2012)، عصاره‌ی هسته انگور (Gibis *et al.*, 2013) و ویتامین D₃ (محمدی و همکاران، ۱۳۹۲) اشاره کرد.

کاروتنوئیدها از جمله مواد مغذی آبریز و آنتی‌اکسیدانی در مواد غذایی هستند (Chen *et al.*, 2007) و بتاکاروتن مهمترین کاروتنوئید موجود در مواد غذایی است که پیش‌ساز ویتامین A (رتینوئیدها) بوده و نیز به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند. دارا بودن ساختار غیراشباع و در نتیجه حساسیت آن به عوامل محیطی و همچنین آبریز بودن آن، مشکلات اصلی غنی‌سازی مواد غذایی با بتاکاروتن است (Hwang *et al.*, 2010). حلالیت این ترکیب آبریز با ریزپوشانی در لیپوزوم، به طور بالقوه می‌تواند افزایش یابد (Ishida *et al.*, 2005) و همچنین سیستم‌های لیپوزومی ثبات شیمیایی آن‌ها را می‌توانند افزایش دهند (Yin *et al.*, Ribeiro *et al.*, 2005).

در ساختار لیپوزوم‌ها از استرول‌ها برای افزایش پایداری غشا می‌توان استفاده کرد که در بیشتر موارد از کلسترول استفاده می‌شود (Mozafari, 2005). با توجه به مشکلات تغذیه‌ای ناشی از کلسترول بالا و ویژگی‌های مفید تغذیه‌ای فیتواسترول‌ها، استفاده از فیتواسترول‌ها برای پایدار کردن و اصلاح فیزیکی غشای خارجی لیپوزوم‌ها مفیدتر است (Hwang *et al.*, 2010). گاما اوریزانول مخلوطی از فیتواسترول‌های حاصل از روغن برنج است که دارای خواص زیست‌فعال مفید بوده و به طور بالقوه می‌تواند برای پایداری و بهبود خواص لیپوزوم‌ها به کار رود (Chan *et al.*, 2004).

هدف از انجام این پژوهش بررسی و مقایسه خواص مهم کلوئیدی و فیزیکوشیمیایی در دو سیستم لیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن همراه فیتواسترول (گاما اوریزانول) و بدون فیتواسترول می‌باشد که به روش حرارتی اصلاح یافته (مظفری اصلاح یافته) بدون نیاز به حلال آلی و نیروی برشی بالا، تولید شدند.

و با قرائت جذب در این غلظت‌ها، منحنی استاندارد رسم شد. نمونه‌ها به صورت بی‌تحرك روی میز قرار داده شدند به طوری که بتاکاروتن کپسوله نشده (آزاد) به علت اختلاف دانسیته با آب (0.961 g.cm^{-3}) به سطح بیاید. سپس به کمک پمپ از قسمت‌های درونی محلول (حاوی لیپوزوم) به میزان ۱ میلی‌لیتر برداشته شد سپس نمونه را برای تخریب لیپوزوم‌ها و آزاد شدن کاروتن کپسوله شده در کلروفرم حل گردید (با نسبت ۱:۱۰ و به مدت ۱۰ دقیقه روی همزن شیکر) و سپس مقادیر بتاکاروتن کپسوله شده توسط اسپکتروفوتومتر و به کمک منحنی استاندارد تعیین شد. سپس درصد کارایی درون پوشانی بتاکاروتن‌های کپسوله شده، توسط معادله ۲ محاسبه شد (Viriyaaraj *et al.*, 2009). البته قبل از این اندازه‌گیری، ۱۰ میلی-گرم گامااوریزانول توزین و با حلال کلروفرم به حجم ۱۰۰ رسیده شد و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر ماورای بنفش - مرئی شدت جذب آن در طول موج‌های ۴۰۰-۱۰۰ نانومتر و ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر تعیین شد. مشاهده شد که بتاکاروتن در طول موج ۴۰۰-۱۰۰ نانومتر جذب ندارد و این باعث می‌شود که در منحنی جذب نمونه‌های دارای گاما اوریزانول بین گاما اوریزانول و بتاکاروتن تداخلی ایجاد نشود زیرا جذب گاما اوریزانول و لستین در ناحیه ۴۰۰-۱۰۰ می باشد (محمدحسینی و همکاران، ۱۳۹۳).

$$(۳) \quad ۱۰۰ \times (\text{میزان اولیه بتاکاروتن افزوده شده به لیپوزوم}) / (\text{میزان بتاکاروتن اندازه‌گیری شده در لیپوزوم}) = \text{کارایی درون پوشانی}$$

اندازه‌گیری کدورت

با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر نور مرئی مدل Ultrospec 2000 در طول موج ۶۰۰ nm اندازه‌گیری شد (Lee & MaClements, 2010).

اندازه‌گیری پتانسیل زتا

پتانسیل زتا معیاری برای دافعه الکترواستاتیک بین ذرات است. از دستگاه پتانسیل زتا مدل Nano-ZS ساخت شرکت Malvern کشور انگلستان در این تحقیق استفاده شد و مقادیر پتانسیل زتا بر حسب میلی‌ولت گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

همه‌ی آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم افزار آماری (SPSS Version 16.0 for Windows, SPSS Inc) در سطح احتمال ۹۵٪ ($P < 0.05$) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام

گاما اوریزانول به لستین وزنی / وزنی) حل شده در ۵ میلی‌لیتر پلی-اتیلن گلیکول، به مخلوط لیپوزومی افزوده با ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسانده شد. در نهایت توسط سیستم حاصله به مدت ۱ ساعت با دور ۱۴۰۰ rpm در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد همزده شد. به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و سپس در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری اندازه و توزیع اندازه ذرات

این ویژگی با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذرات مدل Wing Sald 2101 ساخت آلمان اندازه‌گیری شد. اساس کار دستگاه شکست نور لیزر در اثر برخورد با ذره‌ها می‌باشد که مستقیماً به اندازه ذره وابسته است. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی تعیین شد (معادله ۱).

میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) یا DeBroukere mean:

$$D_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (۱)$$

n_i : تعدات ذرات

d_i : قطر میانگین ذرات

توزیع اندازه ذرات با استفاده از معادله زیر محاسبه شد :

$$\text{Span} = ((D90\% - D10\%) / D50\%) \quad (۲)$$

$D(90\%)$: قطری که حجم ذرات کوچک‌تر از آن، ۹۰ درصد

حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

$D(50\%)$: قطری که حجم ذرات کوچک‌تر از آن، ۵۰ درصد

حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد (قطر میانه).

$D(10\%)$: قطری که حجم ذرات کوچک‌تر از آن، ۱۰ درصد حجم

کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

میزان اسپن کمتر، نشان‌دهنده توزیع در اندازه ذرات باریک‌تر می‌باشد.

اندازه‌گیری راندمان درون پوشانی

برای تعیین غلظت بتاکاروتن کپسوله شده از اسپکتروفوتومتری UV استفاده شد و حداکثر جذب در طول موج ۴۵۴ نانومتر اندازه‌گیری شد (Rauscher *et al.*, 1998). برای این منظور ۱۰ میلی‌گرم بتاکاروتن در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و غلظت‌های مختلفی از آن تهیه شد (۱، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میکروگرم / میلی‌لیتر). سپس جذب هر کدام از آن‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر ماورای بنفش - مرئی در طول موج ۴۵۲ نانومتر خوانده شد و منحنی استاندارد رسم گردید.

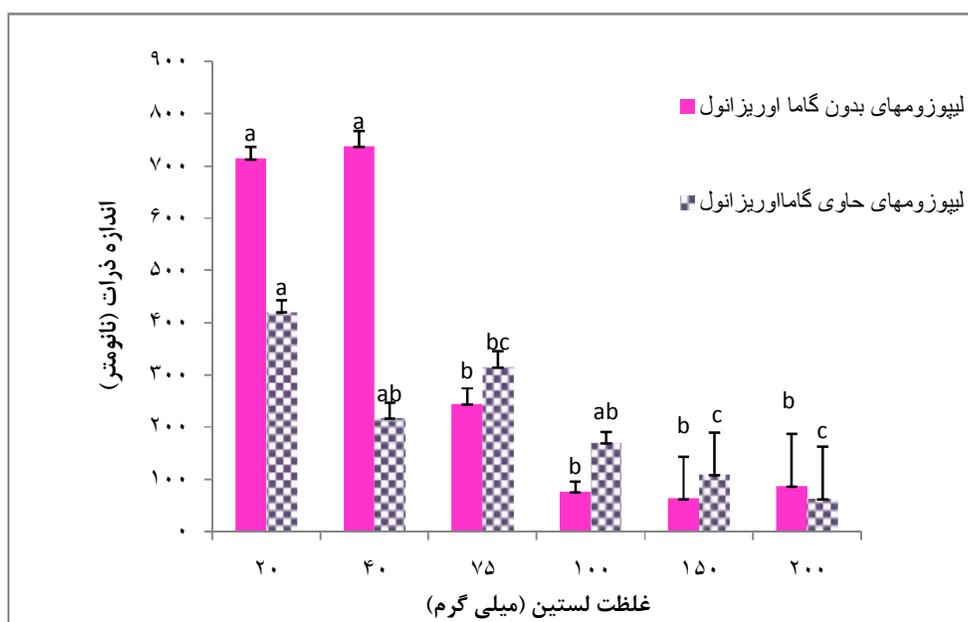
گرفت.

بتاکاروتن در نمونه‌های حاوی و بدون گامااوریزانول در شکل ۱ ارائه شده است. با توجه به نتایج، بین اندازه نمونه‌های حاوی غلظت‌های لستین مختلف تفاوت معنی‌داری در آزمون دانکن در سطح ۵٪ وجود دارد ($P < 0.05$). کوچکترین اندازه ذرات در نمونه‌های بدون گامااوریزانول در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم لستین و بیشترین آن در غلظت ۲۰ میلی‌گرم لستین مشاهده گردید. نتایج نشان داد که برای سیستم لیپوزومی حامل بتاکاروتن مقادیر بهینه‌ای از غلظت فسفولیپید وجود دارد که کمترین اندازه ذرات لیپوزومی را به دست می‌دهد و بیشتر یا کمتر از آن اندازه ذرات را افزایش می‌دهد.

بحث و نتایج

اندازه‌گیری اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات

در ساخت لیپوزوم‌ها از غلظت‌های مختلف لستین (۲۰۰، ۱۵۰، ۱۰۰، ۷۵، ۴۰، ۲۰ میلی‌گرم) با مقدار ثابت بتاکاروتن (۴ میلی‌گرم) و گامااوریزانول برای غلظت‌های مختلف لستین با نسبت ۱ به ۱۴ (وزنی/وزنی) به ترتیب ۱/۴، ۲/۸۵، ۵/۳۵، ۷، ۱۰/۷۰ و ۱۴/۳ میلی‌گرم استفاده شد. اثر غلظت لستین بر اندازه ذرات لیپوزوم‌های حاوی



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف لستین روی اندازه ذرات (حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن در هر سری می‌باشد).

غلظت‌های پایین (۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم) و بالای لستین (۲۰۰ میلی‌گرم) دارای اندازه ذرات کوچکتری بودند و اندازه ذرات در سیستم‌های بدون گامااوریزانول به ترتیب (۷۱۴، ۲۴۵ و ۸۸ نانومتر بوده که با افزودن گاما-اوریزانول به (۴۲۱، ۳۱۶ و ۶۴) نانومتر تغییر یافت. احتمالاً گامااوریزانول با حضور در غشا، ساختار قرارگیری لیپید و جهت‌گیری زنجیره‌های آسیل در دو لایه‌ی لیپیدی را تغییر می‌دهد، به این صورت که استرول، زنجیره‌های آسیلی را که به یک سمت کج شده‌اند را بصورت مستقیم و مرتب نگه می‌دارد و فضاهای ایجاد شده بین آن‌ها را پر می‌کند (Hwang et al., 2010; Nagel et al., 2000). Hwang و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که برای پایین آوردن اثر کلاسترول می‌توان از فیتواسترول‌ها استفاده کرد. لیپوزوم‌های حاوی فیتواسترول‌ها در برابر pH، اکسیداسیون و آنزیم‌ها و در انبارمانی

Alexander و همکاران (۲۰۱۲)، از نانولیپوزوم‌های حاوی فسفاتیدیل کولین و فیتواسترول‌ها برای کیسوله کردن اسید آسکوربیک استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که افزایش غلظت فسفولیپید سویا (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم)، موجب افزایش جزیی اندازه ذرات نانولیپوزوم (به ترتیب به ۱۰۳، ۱۱۵ و ۱۳۶ نانومتر) می‌شود. در شکل ۱ اثر غلظت لستین بر اندازه ذرات لیپوزومی در سیستم‌های حاوی گامااوریزانول نیز ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، در این سیستم‌ها نمونه‌های دارای بالاترین غلظت لستین (۲۰۰ میلی‌گرم) دارای کوچکترین اندازه ذره می‌باشند و تقریباً یک روند کاهشی در اندازه ذرات لیپوزوم‌ها با افزایش غلظت لستین مشاهده می‌شود که ممکن است به افزایش تعداد ذرات لیپوزوم تولید شده مربوط باشد. مطابق این شکل نمونه‌های حاوی گامااوریزانول در

تک مد بود. یعنی در نمونه‌ها یکنواختی محتوا و تکرارپذیری مشاهده می‌شود، نمونه‌هایی با توزیع اندازه باریک در برابر پدیده ناپایداری از نوع رسیدگی استوالد مقاوم‌تر هستند می‌توان نتیجه گرفت که روش تولید مورد استفاده، مستقل از غلظت‌های متفاوت لستین، برای تولید لیپوزوم‌ها در اندازه‌های نانومتری و توزیع اندازه ذرات یکنواخت، مناسب می‌باشد. مشابه این تحقیق، Alexander و همکاران (۲۰۱۲)، اعلام نمودند که لیپوزوم‌های حاوی استرول و بدون استرول، از نظر توزیع اندازه به‌صورت همگن و یکسان می‌باشند. به‌طور کلی عوامل متعددی مانند نسبت فسفولیپید به ماده فعال، روش تولید لیپوزوم، نوع پایدارکننده غشا، دما بر اندازه ذرات موثر هستند (Heurltaut *et al.*, 2003).

پایدارتر می‌باشند. که به علت شباهت ساختاری گامااوریزانول به‌عنوان یک استرول گیاهی با کلسترول، می‌توان گفت که افزودن آن منجر به افزایش سفتی دیواره وزیکول‌ها و در نتیجه کاهش میزان هم‌آمیختن آن‌ها و کاهش اندازه ذرات می‌شود (Xu & Godber, 2011). در جدول ۱ تاثیر غلظت‌های مختلف لستین روی توزیع اندازه ذرات آمده است. در سیستم‌های حاوی فیتواسترول نتایج مشابهی با سیستم‌های بدون فیتواسترول به‌دست آمد. همچنین در سیستم‌های حاوی بتاکاروتن با فیتواسترول نتایج مشابهی با سیستم‌های حاوی بتاکاروتن بدون فیتواسترول به‌دست آمد (جدول ۱). هرچقدر اسپن کمتر باشد، پهنای نمودار توزیع اندازه ذرات کمتر و سیستم همگن‌تر خواهد بود. توزیع اندازه ذرات برای تمام نمونه‌ها با غلظت‌های متفاوت لستین

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف لستین در توزیع اندازه ذرات

غلظت لستین (mg)	اسپن نانولیپوزوم‌های بدون گامااوریزانول	اسپن نانولیپوزوم‌های حاوی گامااوریزانول
۲۰	۰/۸۲±۰/۰۲۳ ^a	۰/۸۰±۰/۰۷۳ ^a
۴۰	۰/۸۱±۰/۰۸۱ ^a	۰/۸۱±۰/۰۲۳ ^a
۷۵	۰/۷۷±۰/۰۳۵ ^a	۰/۷۳±۰/۰۹۸ ^a
۱۰۰	۰/۸۰±۰/۰۵۱ ^a	۰/۷۶±۰/۰۴۳ ^a
۱۵۰	۰/۷۴±۰/۰۵۱ ^a	۰/۷۱±۰/۰۹۷ ^a
۲۰۰	۰/۶۸±۰/۰۸۳ ^a	۰/۷۶±۰/۰۸۶ ^a

اندازه‌گیری پتانسیل زتا

نتایج به‌دست آمده در جدول ۲ ارائه شده است که نشان‌دهنده پایداری بالا سیستم‌های کلونیدی است. فسفولیپیدها با دارا بودن گروه‌های فسفات که در سطح غشا قرار می‌گیرند باعث افزایش پایداری نانولیپوزوم‌های حاصل می‌شوند که به علت یونیزاسیون گروه‌های فسفات در سیستم‌های آبی آن است. عوامل متعددی مانند نوع و مقدار فسفولیپید، نوع و غلظت پایدارکننده و ماده‌ی فعال، قدرت یونی محیط و دما بر پتانسیل زتا موثر هستند (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۹۲).

پتانسیل زتا از نظر پایداری الکترواستاتیک ذرات لیپوزومی و همچنین اتصال لیپوزوم به غشای سلول‌های هدف اهمیت دارد. افزایش پتانسیل زتا موجب افزایش نیروی دافعه بین ذرات و جلوگیری از برخورد و انبوهش آنها می‌گردد و از طرف دیگر، با افزایش بار ذرات، امکان برهمکنش با غشای سلول‌های هدف بیشتر شده و تحویل ترکیبات فعال بهتر می‌شود. در این پژوهش، برای مشخص شدن نحوه عمل نیروهای دافعه الکترواستاتیک بین نانولیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن و همچنین میزان پایداری فرمولاسیون حاصل، از نتایج تحرک الکتروفوریتیک و پتانسیل زتا استفاده شد.

جدول ۲- پتانسیل زتا برای فرمولاسیون‌های مختلف نانولیپوزوم‌ها در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم لستین

پتانسیل زتا	نمونه‌ها
-۲۹/۷	لستین خالی
-۲۹/۰	لیپوزوم حاوی بتاکاروتن
-۳۵/۹	لیپوزوم بتاکاروتن با نسبت ۲ به ۱۳ (گاما-اوریزانول به لستین)
-۴۲/۸	لیپوزوم بتاکاروتن با نسبت ۱ به ۱۴ (گاما-اوریزانول به لستین)

گروه هیدروکسیل آن با گروه کولین، موجب افزایش گروه‌های فسفات در سطح غشا می‌گردند و به این ترتیب بار منفی غشا در حضور استرول‌ها افزایش می‌یابد (Fatouros & Antimisiaris, 2002).

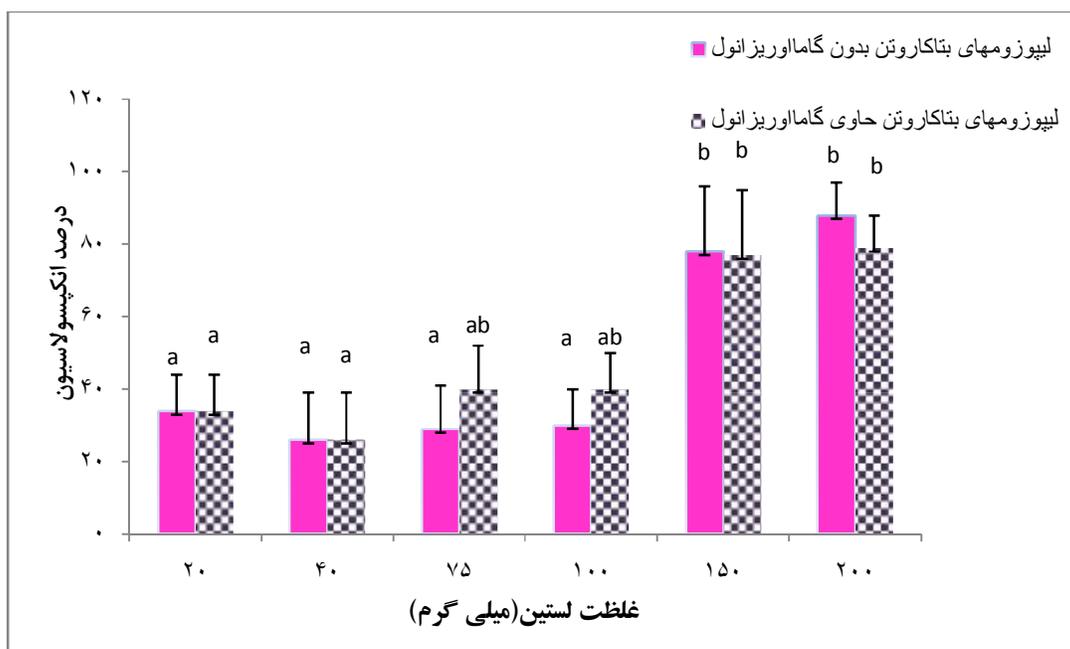
استفاده از گاما اوریزانول به‌عنوان پایدارکننده غشایی باعث افزایش پتانسیل زتا و در نتیجه پایداری سیستم‌های لیپوزومی گردید. مولکول‌های گاما اوریزانول احتمالاً از طریق برقراری پیوند هیدروژنی

اعلام نمودند که پایداری لیپوزوم‌ها به دافعه استری (ممانعت فضایی) ایجاد شده توسط زنجیره‌های استری پلی‌اتیلن گلیکول می‌توان نسبت دادند.

اندازه‌گیری راندمان درون پوشانی

غلظت‌های مختلف لستین تاثیر معنی‌داری بر راندمان درون-پوشانی بتاکاروتن داشت (در سطح ۹۵٪) و راندمان ریز پوشانی ۸۹٪-۲۷٪ برای غلظت‌های مختلف لستین به دست آمد (شکل ۲). Rasti و همکاران (۲۰۱۲)، درصد ریزپوشانی ماده فعال امگا سه را در لیپوزوم‌های تهیه شده به روش گرمایی ۷۳/۱۲٪ گزارش کردند. درصد ریزپوشانی لیپوزوم‌های حاوی DNA به روش مظفری ۷۰/۳٪ بدست آمد (مرتضوی و همکاران، ۲۰۰۷). همان‌طور که ملاحظه می‌شود افزایش غلظت لستین موجب افزایش راندمان در هر دو نمونه-های حاوی و بدون گاما اوریزانول شده است.

Sakulkhu و همکاران (۲۰۰۷)، با بررسی پتانسیل زتای نانو ذرات لیپیدی جامد حاوی گاما اوریزانول، گزارش نمودند که افزودن گاما اوریزانول منجر به افزایش پتانسیل زتا از ۱۸- به ۲۶- می‌شود. در مورد تاثیر افزودن استرول بر پایداری لیپوزوم‌ها، Liu و همکاران (۲۰۰۸)، اعلام کردند که کلسترول از طریق سفت کردن ساختار غشا و افزایش پتانسیل زتا و دفع الکتروستاتیک بین ذرات باعث پایداری لیپوزوم‌ها می‌شود. همچنین، پلی‌اتیلن گلیکول علاوه بر عمل به‌عنوان یک حلال، می‌تواند به‌عنوان یک سورفاکتانت غیریونی پلیمری در سطح غشا عمل کرده و ممانعت فضایی را افزایش داده و با افزایش دافعه استری موجب پایداری اندازه ذرات گردد. بنابراین در سیستم-های لیپوزومی تهیه شده (Wu et al., 2011). در این پژوهش، حل کردن بتاکاروتن در پلی‌اتیلن گلیکول می‌تواند باعث افزایش پایداری لیپوزوم‌های حاصل گردد. Liu و همکاران (۲۰۰۸)، لیپوزوم‌های حاوی پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ را از نظر پایداری مورد مطالعه قرار دادند و



شکل ۲- تاثیر غلظت لستین بر راندمان درون پوشانی بتاکاروتن در لیپوزوم‌های حاوی و بدون گاما اوریزانول (حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد).

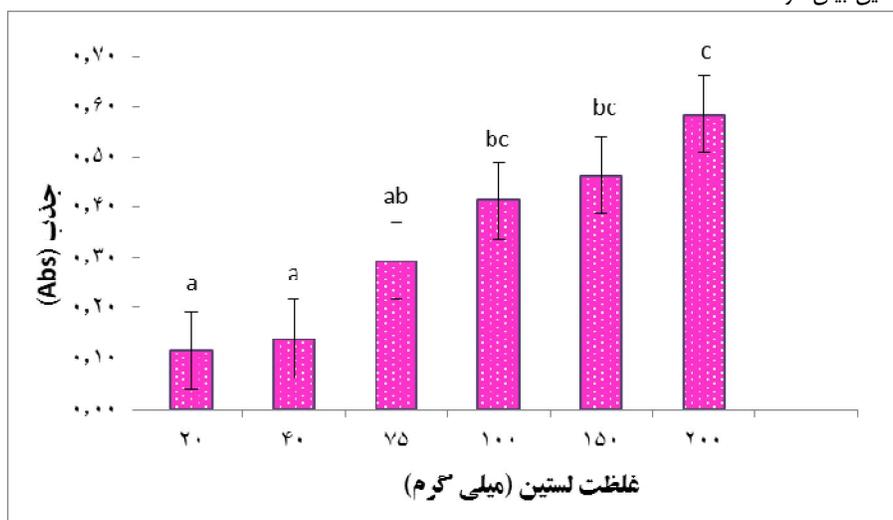
نتایج نشان می‌دهد که حضور گاما اوریزانول به‌عنوان یک فیتواسترول اثر ثابت و معنی‌داری بر درصد ریزپوشانی بتاکاروتن نداشته است. مشابه این تحقیق، Alexander و همکاران (۲۰۱۲)، اعلام نمودند که استرول‌ها بر راندمان درون پوشانی مواد آبدوست تاثیری نداشته و بین فیتواسترول‌ها و کلسترول در این مورد تفاوتی وجود ندارد. آن‌ها همچنین گزارش نمودند که استفاده از فیتواسترول‌ها

محمدحسینی و همکاران (۱۳۹۳) مشاهده کردند که کارایی درون پوشانی گاما اوریزانول با افزایش غلظت لستین از ۶۰٪ تا ۸۴/۳٪ بالا می‌رود. آن‌ها اینگونه پیشنهاد کردند که افزایش غلظت فسفولیپید منجر به تولید تعداد لیپوزوم بیشتر و همچنین افزایش حجم داخلی لیپوزوم و تمرکز بیشتر ترکیب فعال در لیپوزوم شده و در نتیجه بازده درون پوشانی افزایش یافت.

اندازه‌گیری کدورت

پخش نور توسط ذرات موجود در محیط کلونیدی باعث کدورت سیستم می‌شود که به تعداد و اندازه ذرات کلونیدی موجود در فاز مایع، تفاوت در ضریب انعکاس ذرات، فاز پیوسته و توزیع اندازه ذرات بستگی دارد. با توجه به شکل ۳، با افزایش میزان لستین کدورت بطور معنی‌داری (۱۶٪ تا ۸۰٪) یعنی از طول موج جذب ۰/۱۱۶ تا ۰/۵۸۵ افزایش یافت که به افزایش تعداد وزیکول‌های لیپوزومی و افزایش پیوندهای آبگریز می‌تواند مربوط باشد. Weiss و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند لیپوزوم‌هایی که از یک لایه نازک فسفولیپید تهیه شده‌اند قدرت زیادی در پراکنش نور ندارند اما نانولیپوزوم‌های بالاتر از ۲۰۰ نانومتر کمی کدر بوده و کپسوله کردن ماده فعال نیز در کدورت و تغییر در ضریب شکست آن موثر است.

موجب کاهش راندمان درون‌پوشانی مواد فعال چربی دوست می‌گردد که احتمالاً ناحیه لیپوفیل (فضای بین دوغشا) توسط این ماده آب‌گریز محصور می‌گردد. به این دلیل در حضور گاما‌اوریزانول در سیستم‌های نانولیپوزومی بتاکاروتن، درصد درون‌پوشانی کمی کمتر است ولی تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های بدون گاما‌اوریزانول ندارد. با توجه به پژوهش محمدحسینی و همکاران (۱۳۹۳) بیان کردند که به علت ماهیت بیش از حد هیدروفوبیک گاما‌اوریزانول در ساختار دولایه (قسمت آبگریز) لیپوزومی، قرار می‌گیرد و احتمالاً بتاکاروتن نیز به علت برخورداری از ماهیت آب‌گریزی بالا، جهت حداکثر کردن فاصله با آب، در این ناحیه قرار می‌گیرد و کارایی درون‌پوشانی اندکی کاسته می‌شود، ولی در پژوهش Ramana و همکاران (۲۰۱۰)، افزایش غلظت لستین منجر به افزایش درصد ریزپوشانی ترکیبات آب‌گریز مانند نوپراپین شد که دلیل آن را چروکیدگی و فاز آبی در غلظت‌های بالای لستین بیان کردند.



شکل ۳- درصد افزایش لستین در کدورت نانولیپوزوم‌های بدون گاما‌اوریزانول

(حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ است)

و کدورت سیستم‌ها موثر بودند. کوچکترین اندازه ذرات نانولیپوزوم در مقادیر ۱۰۰ میلی‌گرم لستین در مقدار ثابت بتاکاروتن به دست آمد و درصد ریزپوشانی این ماده در غلظت‌های مختلف لستین مورد بررسی قرار گرفت. افزودن گاما‌اوریزانول نیز بر خواص مختلف فیزیکی اثر چندانی نداشت ولی در پتانسل زتا موثر بود و موجب افزایش آن شد.

نتیجه‌گیری

برای افزایش حلالیت و ماندگاری بتاکاروتن در طول زمان نگهداری از سیستم حامل لیپوزومی استفاده شد. همچنین برای بهبود خواص فراسودمند و خواص فیزیکی غشای لیپوزوم‌های حاصل از گاما‌اوریزانول به‌عنوان فیتواسترول استفاده شد. مقادیر غلظت‌های لستین مورد استفاده، بر اندازه ذرات، راندمان درون‌پوشانی، پتانسیل زتا

منابع

- قنبرزاده، ب.، الماسی، ه. و نیک‌نیا، ن.، ۱۳۹۲، شیمی و فیزیک سیستم‌های کلونیدی و محلول‌های بیوپلیمری غذایی، موسسه انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف، ۱۲-۳۳.
- محمدحسینی، ز.، قنبرزاده، ب.، همیشه‌کار، ح. و رضایی‌مکرّم، ر.، ۱۳۹۳، تعیین ویژگی‌های نانولیپوزوم‌های حامل گاما‌اوریزانول توسط طیف

- سنجی فرو سرخ، اندازه وزیکول، پتانسیل زتا، پایداری فیزیکی و رئولوژی پایه، مجله پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۰، ۶۲-۷۵.
- محمدی، م.، قنبرزاده، ب.، همیشه کار، ح.، رضایی مکرم، ر. و محمدی فر، م.ا.، ۱۳۹۲، ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی نانولیپوزوم‌های حامل ویتامین D₃ تولید شده به روش هیدراسیون لایه نازک-سونیکاسیون، مجله علوم صنایع غذایی ایران، ۴، ۱۸۸-۱۷۵.
- Alexander, M., Acero, L. A., Fang, Y. & Corredig, M., 2012, Incorporation of phytosterols in soy phospholipids nanoliposomes: Encapsulation efficiency and stability. *Food Science Technology*, 47, 427-436.
- Anarjan, N., Tan, C. P., Nehdi, A. I. & Ling, T. C., 2012, Colloidal astaxanthin: Preparation, Characterisation and bioavailability evaluation. *Food chemistry*, 135, 1303-1309.
- Chan, Y. H., Chen, B. H., Chiu, C. P. & Lu, Y. F., 2004, The influence of phytosterols on the encapsulation efficiency of cholesterol liposomes. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 985-995.
- Chen, X., Chen, R., Guo, Z., Li, C. & Li, P., 2007, The preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with β -cyclodextrin. *Food Chemistry*, 101(4), 1580-1584.
- Fathi, B., Mozafari, M. & Mohebbi, M., 2011, Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends Food Science Technology*, 1-15.
- Fatouros, D. G. & Antimisariis, S. G., 2002, Effect of amphiphilic drugs on the stability and zeta-potential of their liposome formulations: A study with prednisolone, diazepam, and griseofulvin. *Journal of Colloid and Interface Science*, 251, 271-277.
- Gibis, M., Rahn, N. & Weiss, J., 2013, Physical and oxidative stability of uncoated and chitosan-coated liposomes containing grape seed extract. *Pharmaceutics*, 5, 421-433.
- Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J. E., & Benoit, J. P., 2003, Physicochemical stability of colloidal lipid particles, *Biomaterials*, 24, 4283-4300.
- Horn, D. & Rieger, J., 2001, Organic nanoparticles in the aqueous phase - theory, experiment, and use. *Angewandte Chemistry International*, 40(23), 4330-4361.
- Hwang, I. S., Tasi, Y. & Chiang, K., 2010, The feasibility of antihypertensive oligopeptides encapsulated in liposomes prepared with phytosterols β -sitosterol or stigmasterol. *Food research international*, 43, 133-19.
- Ishida, E. S. & Bartley, G. B., 2005, Carotenoids. Chemistry, Sources and Physiology. *Encyclopedia of Human Nutrition*, Vol 1, Chapter C, 330-338.
- Keller, B. C., 2001, Liposomes in nutrition. *Trends in Food Science Technology*, 12: 25-31.
- Lee, S. & McClements D. J., 2010, Fabrication of protein-stabilized nanoemulsions using a combined homogenization and amphiphilic solvent dissolution/evaporation Approach, *Food Hydrocolloid*, 24: 560-9.
- Liu, Z., Jiao, Y., Wang, Y., Zhou, C. & Zhang, Z., 2008, Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Review*, 60, 1650-1662.
- Marsanasco, M., Marquez, A. L., Wagner, J. R., Alonso, S. V. & Chiamoni, N. S., 2011, Liposomes as vehicles for vitamins E and C: An alternative to fortify orange juice and offer vitamin C protection after heat treatment. *Food Research International*, 1-35.
- Mozafari, M. R., 2005, Liposomes: an overview of manufacturing techniques. *Cellular and molecular biology letters*, 10, 711-719.
- Mozafari, M. R., 2005, Liposomes: an overview of manufacturing techniques. *Cellular and molecular biology letters*, 10, 711-719.
- Mortazavi, S. M., Mohammadabadi, M. S., Khosravi-Darani, K. & Mozafari, M. S., 2007, Preparation of liposomal gene therapy vectors by a scalable method without using volatile solvents or detergents, *Journal of Biotechnology*, 129, 604-613.
- Mozafari, M. R., Johnson, Ch., Hotziantoniou, S. & Demetzos, C., 2008, Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *Journal of Liposome Research*, 18, 309-327.
- Mozafari, M. R., 2010, Nanoliposomes: preparation and analysis. *Methods in molecular biology*, Pp. Springer, 29-50.
- Mozafari M.R., Khosravi-Darani K., Borazan G.G., Cui, J., Pardakhty A., & Yurdugul S., 2011, Encapsulation of Food Ingredients Using Nanoliposome Technology, *International Journal of Food Properties*, 11, 833-844.
- Nagle, J. F. & Tristram-Nagle, S., 2000, Structure of lipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1469, 159-195.
- Nacke, C. & Schrader, J., 2011, Liposome based solubilisation of carotenoid substrates for enzymatic conversion in aqueous media. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 71, 133-138.
- Ramana, L., Sethuraman, S., Ranga, U. & Krishnan, U. M., 2010, Development of a liposomal nanodelivery system for nevirapine. *Journal of Biomedical Science*, 17, 1-9.
- Rasti, B., Jinap, E., Mozafari, M. R. & Yazid, A. M., 2012, Comparative study of the oxidative and physical stability of liposomal and nanoliposomal polyunsaturated fatty acids prepared with conventional and Mozafari methods. *Food Chemistry*, 1-34.
- Rauscher, R., Edenharder, R. & Platt, K. L., 1998, In vitro antimutagenic and in vivo anticlastogenic effects of carotenoids and solvent extracts from fruits and vegetables rich in carotenoids. *Mutation Research*, 413, 129-142.
- Ribeiro, H. S., Rico, L. G., Badolato, G. G. & Schubert, H., 2005, Production of O/W emulsions containing astaxanthin by repeated premix membrane emulsification. *Journal of Food Science*, 70, 117-123.

- Sagalowics, L. & Leser M., 2010, Delivery systems for liquid food products. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 15, 61–72.
- Sakulkhu, U., Jarupaiboon, S., Trithong, A., Prathontep, S., Janyaprasert, V., Puttipipatkachorn, S. & Ruktanonchai, U., 2007, Production and characterization of rice bran extract encapsulated in solid lipid nanoparticles for dermal delivery. Proceedings of The 2nd IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, 2007 Jan. 16-19, Bangkok, Thailand.
- Tan, H. W. & Misran, M., 2012, Characterization of fatty acid liposome coated with low-molecular-weight chitosan. *Journal of Liposome Research*, 22(4), 329–335.
- Viriyaraj, A., Ngawhirunpat, T., Sukma, M., Akkaramongkolporn, P., Ruktanonchai, U. & Opanasopit, P., 2009, Physicochemical properties and antioxidant activity of gamma-oryzanol-loaded liposome formulations for topical use. *Pharmaceutical Development Technology*, 6, 665–671.
- Weiss, J., Takhistov, P. & Mcclements, J., 2006, Functional materials in food nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71, 107-116.
- Wu, L., Zhang, J. & Watanabe, W., 2011, Physical and chemical stability of drug nanoparticles, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 456–469.
- Xu, Z. and Godber, J. S., 2001, Antioxidant activities of major components of -oryzanol from rice bran using a linoleic acid model. *Journal of American Oil Chemistry Sciences*, 78, 465-469.
- Yin, L. J., Chu, B. S., Kobayashi, I. & Nakajima, M., 2009, Performance of selected emulsifiers and their combinations in the preparation of β -carotene nano dispersions. *Food Hydrocolloids*, 23, 1617-1622.
- Yurdugul, S. & Mozafar, M. R., 2004, Recent advances in micro- and nanoencapsulation of food ingredients. *Cellular and molecular biology letters*, 9, 64–65.
- Zhang, J. & Wang, S., 2009, Topical use of Coenzyme Q 10-loaded liposomes coated with trimethyl chitosan: Tolerance, precorneal retention and anti-cataract effect. *International Journal of Pharmaceutics*, 372, 66–75.



The study of the colloidal properties of nano liposomes containing beta-carotene produced by thermal method

B. Ghanbarzadeh^{1*}, S. Bashiri², H. Hamishekar³, J. Dehghannya⁴

Received: 2014.11.27

Accepted: 2015.06.11

Introduction: The encapsulation of nutraceuticals in lipid based carriers, such as liposomes, can lead to increasing of bio-active ingredients bioavailability and controlled release, maintaining their stability in different environmental conditions and increasing solubility of hydrophobic active ingredients in aqueous conditions. Food grade liposomes are being increasingly used in food industry to delivery hydrophilic and hydrophobic components such as vitamin E and vitamin C, ascorbic acid, nutraceuticals, essential omega 3 fatty medium chain fatty acids-vitamine C, nisine, cartenoides, oleic acids, polyphenols include catechine, synamic acids.

One of the hydrophobic nutrients with antioxidant and beneficial pro-vitamine property is beta-carotene, which its high hydrophobicity and sensitivity in different environmental conditions has limited using of it for foodstuff enrichment. In order to improve the characteristics of the lipid bilayer, cholesterol traditionally has been included in the lipid membrane. It is important in decreasing permeability and strengthening the membrane. People suffering from hyper-cholesterolaemia are encouraged to avoid foods containing cholesterol. Since the plant sterols are natural compounds found in plant cell membranes which help maintain the membrane integrity. Such as Gama oryzanol is combination of different of plant sterols that is used in the formulation of nanoliposomes in this study to improve the stability of bilayers. The principal aim of this study was to prepare beta-caroten encapsulated nano- liposome formulations as a mean to improve its aqueous dispensability and to study the effect of lecithin-phytosterol concentrations on the partical size, encapsulation efficiency (EE), zeta potential, turbibility of beta carotene loaded nano-liposomes to get the optimized formulation.

Materials and methods: Preparing liposomes is being carried out using different methods one of which is a novel technique called is "Mozafari method" (based on heating method). This method is characterized by the absence of organic solvent for the solving of lipids. Non-toxicity of produced liposomes; rapid production and scalability are some of the advantages of Mozafari method over other methods of liposome production. In this study, the liposomal ingredients were added to a preheated (60 °C, 5 min) water, mixture of beta-carotene, gamma oryzanol solution and glycerol (final concentration 3% v/v) were added. The mixtures volume increased by adding warm water until 50ml, the mixture was further heated 60 while stirring 1200 rpm for 50-60 min under nitrogen atmosphere.

Results and discussion: Effect of different concentration of lecithin (20, 40, 75, 100, 150, 200 mg) on particle size and zeta potential of nano-liposomes with constant amount of beta carotene (4 mg) and gamma-oryzanol for different concentration of lecithin with ratio 1:14 w/w were evaluated. The Particle size of nano liposomes with different concentration of lecithin was obtained below 500nm and the optimal concentration of lecithin was 100 mg that particle size was minimum (64-88 nm). The gamma-oryzanol is a natural phytosterol which is as stabilizer for liposome membrane and promoting agent of hardness of vesicles wall however, the particle size of liposomes were reduced especially in low concentration of lecithin. The using phytosterols (gamma oryzanol) for maintaining the stability of liposomal membranesystems caused to reducing of particle size from 88nm to 64nm in 200 mg concentration of lecithin.

The entrapment efficiency increased by increasing concentration of lecithin for nano-liposomes. It is because increasing the lecithin concentration, more vesicles were produced which in turn increased the loading capacity of nano-liposomes. In the liposome structure, the aqueous core and bilayer are the hydrophilic and hydrophobic

1 and 4. Associated Professors of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2- M. Sc. of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3- Associated Professor of Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Technology Laboratory, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences

(*-Corresponding Author Email: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir)

parts, respectively. Therefore, the phospholipid bilayers place for beta carotene, and other hydrophobic substances. The entrapment efficiency in different concentration of lecithin was between 27-98%. The entrapment efficiency of liposomes containing beta carotene that used gamma oryzanol was less than liposomes without gamma oryzanol probably because the position of capsulation of gamma oryzanol and beta carotene is same in the bilayer of liposome that's hydrophobic source of liposomes. But Gamma oryzanol was not effective on encapsulation efficiency of beta-carotene.

The zeta potential, the electric potential in the interface or particle surface charge, is used to predict the stability of colloidal systems. In general, higher zeta potential values, regardless of their positive or negativity, indicate a higher and longer-term stability of the particles. Zeta potential of liposomes, which is a measure for the electrostatic repulsion and stability, was -29 and -35 milivolt for samples with and with not containing gamma oryzanol, respectively.

For turbidity of liposomes, encapsulation of bioactive compounds can change the optical appearance due to the fact that the refractive index at the interface between solvent and internal phase changes and the size of liposomes may be altered. Increasing significantly of turbidity of liposomes (16% -80%), the wave length increase from 0.116 to 0.585 cm^{-1} high concentration of lecithin maybe due to increasing visuals and hydrophobic interactions.

Key word: Nano Liposome, Beta Carotene, Colloidal Properties

تولید و بررسی خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم ایزوله پروتئین سویا - کتیرا

حمیده سپردار^۱، ابراهیم رحیمی^{۲*}، ایمان شهابی قهفرخی^۳، بهزاد آقا براری^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۵/۱۰

چکیده

به دلیل آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از مواد بسته‌بندی پلاستیکی و زیست تخریب‌ناپذیر تحقیقات زیادی برای تولید بسته‌بندی‌های زیست تخریب‌پذیر انجام شده است. فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا (SPI) یک پلیمر زیست تخریب‌پذیر است، که دارای ارزش تغذیه‌ای بسیار بالایی است که اخیراً به‌عنوان یک ماده بسته‌بندی زیست سازگار مورد توجه قرار گرفته است. از سوی دیگر کتیرا (TG) به‌عنوان یک صمغ گیاهی با خصوصیات مکانیکی خوب، مطرح است. در این تحقیق اثر افزودن کتیرا به‌عنوان بهبود دهنده خصوصیات کاربردی بیوپلیمر در سه سطح ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ (W/W) استفاده شد و تأثیر آن بر روی خصوصیات مکانیکی، حلالیت در آب، محتوای رطوبت، جذب آب، نفوذپذیری نسبت به بخار آب و رنگ فیلم ایزوله پروتئین سویا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش کتیرا و کاهش میزان ایزوله پروتئین سویا مقاومت کششی و میزان رطوبت فیلم افزایش، ولی ازدیاد طول تا نقطه شکست، حلالیت در آب فیلم، میزان جذب آب و نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم کاهش یافت. در پارامترهای a ، L و اندیس سفیدی بیشترین مقدار مربوط به نمونه کتیرا: ایزوله پروتئین سویا (۴/۵ : ۰/۵) و در پارامتر b ، تغییر رنگ و اندیس زردی بیشترین مقدار مربوط به نمونه کتیرا: ایزوله پروتئین سویا (۴/۹ : ۰/۱) بود.

واژه‌های کلیدی: بیوپلیمر، ایزوله پروتئین سویا، کتیرا، زیست تخریب‌پذیر

مقدمه

از دیرباز، بسته‌بندی مواد غذایی برای حفاظت غذا از گرما، نور، رطوبت، اکسیژن، میکروارگانیسم‌ها، حشرات و گرد و خاک توسعه پیدا کرده است (خدایاری، ۱۳۸۹). پلاستیک‌ها با منشا مواد نفتی مثل پلی‌اولفین‌ها، پلی‌استرها و پلی‌آمیدها به‌علت در دسترس بودن در مقادیر زیاد، قیمت پایین و ویژگی‌های کاربردی مطلوب بطور گسترده به‌عنوان مواد بسته‌بندی بکار می‌روند (Tharanthan, 2003). مهم‌ترین مشکل مواد بسته‌بندی سنتزی زمان‌بر بودن فرایند تجزیه آن‌ها می‌باشد. از این رو می‌تواند باعث آلودگی محیط زیست گردند. هم‌چنین آلودگی ماده غذایی به وسیله مواد بسته‌بندی و مهاجرت مواد نامطلوب از بسته به غذا از مشکلات دیگر این مواد می‌باشند، که باعث کاهش امنیت غذایی و تغییر طعم می‌گردند (Rhimi, 2007).

(Siracusa et al., 2008). در سال‌های اخیر، مشکلات مذکور، زمینه‌ساز توسعه پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر گردیده است. یک گروه از این پلیمرها، فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی است (Russo et al., 2009). در صنایع غذایی از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی، برای حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری غذاها استفاده می‌شود. هم‌چنین فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی مانعی در برابر انتقال رطوبت، آروما، اکسیژن، طعم و روغن هستند و باعث افزایش کیفیت و ماندگاری غذاها (Bertuzzi et al., 2007)، بهبود ویژگی‌های ظاهری، حفظ رنگ و طعم آن‌ها و به تأخیر افتادن فساد میکروبی در سطح مواد غذایی می‌شوند (Cao & He., 2007). همان‌طور که ذکر گردید، بیوپلیمرها دارای مزایایی می‌باشند که مهم‌ترین آن‌ها، زیست تخریب‌پذیری و تجدیدپذیری این مواد است. اما با این وجود، خواص مکانیکی ضعیف و نفوذپذیری بالا نسبت به بخار آب دو عیب اصلی آن‌ها محسوب می‌شوند که باعث محدود شدن استفاده صنعتی از این مواد در بسته‌بندی می‌گردد. به همین دلیل طی سال‌های اخیر تحقیقات بر روی اصلاح خواص کاربردی این پلیمرها، بهبود خواص مکانیکی و بازدارندگی آن‌ها نسبت به بخار آب متمرکز شده است (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸).

ایزوله پروتئین سویا، خالص‌ترین نوع پروتئین سویا است که

۱ و ۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، شهرکرد.
۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان.
۴- استادیار، پژوهشگاه انرژی و مواد کرج، کرج.

* - نویسنده مسئول: (Email: Ebrahimrahimi55@yahoo.com)

از تحقیق حاضر بررسی اثر کتیرا به‌عنوان یک ماده مکمل با خصوصیات مکانیکی و نفوذپذیری بهتر نسبت به فیلم ایزوله پروتئین سویا، بر روی ویژگی‌های فیلم ایزوله پروتئین سویا و بررسی خصوصیات مکانیکی، حلالیت در آب، رطوبت، جذب آب، نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) و رنگ فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا-کتیرا و تعیین بهترین سطح کتیرا و فیلم بهینه برای کاربرد در بسته‌بندی مواد غذایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

کتیرا مورد استفاده از نوع ورقه‌ای از بازار شهرکرد خریداری شد. ایزوله سویا (با بیش از ۹۰٪ پروتئین) از شرکت Crown چین تهیه شد. گلیسرین مورد استفاده به‌عنوان پلاستی‌سایزر، محصول شرکت Romil-SA انگلستان بود. نیترات منیزیم و کلرید کلسیم از شرکت MERCK آلمان تهیه شدند.

تهیه فیلم کامپوزیتی

محلول‌های فیلم (تیماها) متشکل از ایزوله پروتئین سویا: کتیرا به نسبت ۴/۵:۰/۵ (A)، ۴/۷:۰/۳ (B) و ۴/۹:۰/۱ (C)، و پلاستی‌سایزر گلیسرول به نسبت ۹۰ درصد وزنی- وزنی ماده خشک کل، در ۱۰۰ گرم آب تهیه شدند (شکل ۱).

در ابتدا، مقدار مورد نظرتوزین شده (ترازوی ۰/۰۰۰۱ Sartorius، ساخت آلمان) از ایزوله پروتئین سویا را در آب مقطر حل و پس از آن به کمک سود یک دهم نرمال pH محلول روی ۱۰ (pH متر JENWAY، ساخت انگلستان) تنظیم شد. دمای محلول ایزوله پروتئین سویا توسط بن ماری (بهداد، ساخت ایران) تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. آنگاه محلول کتیرا در آب با غلظت متناسب آن تیمار که بصورت مجزا تهیه شده بود، بصورت تدریجی به محلول ایزوله پروتئین سویا اضافه شد. سپس گلیسرول به‌عنوان پلاستی‌سایزر به محلول نهایی افزوده شد. محلول نهایی حدود ۱۵ دقیقه توسط همزن مغناطیسی (مگنت) بر روی هیتر مگنت (JENWAY، ساخت انگلستان) همزده شد تا خوب یکنواخت شود. آنگاه بر روی پلیت‌های پلی‌استایرنی مخصوص با قطر ۱۰cm ریخته شد و در آن (بهداد، ساخت ایران) با دمای 25 ± 5 درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد. در انتها فیلم‌ها از روی پلیت‌ها جدا شدند. بعد از ساخته شدن و جدا شدن، تمام فیلم‌ها قبل از انجام آزمون‌ها به مدت حداقل ۴۸ ساعت در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم اشباع نگه داشته شدند، تا به رطوبت نسبی حدود ۵۰-۵۵ درصد برسند و بر اساس روش استاندارد ASTM-D882-10 مشروط شوند. (ASTM, 2010).

بصورت تجاری در دسترس است و میزان پروتئین آن بیش از ۹۰ درصد بر مبنای وزن خشک می‌باشد. از این ماده زمانی استفاده می‌شود که میزان پروتئین بالا و ویژگی‌های عملکردی ویژه در غذا مورد نیاز باشد (Londhe et al., 2011). یکی از روش‌های تولید فیلم‌های تجزیه‌پذیر استفاده از پلیمرهای طبیعی بر پایه پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها است. در میان این موارد، استفاده از پروتئین در تهیه پوشش خوراکی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Cao & He, 2007; Salmoral et al., 2000). این فیلم‌ها علاوه بر بهبود ارزش تغذیه‌ای ماده غذایی، ویژگی‌های مکانیکی و تراوایی بهتری نسبت به فیلم‌های تهیه شده از کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها دارند. تاکنون پروتئین‌های فراوانی از جمله ژلاتین، کارژین، پروتئین آب پنیر، زئین ذرت، گلوتن گندم و ایزوله پروتئین سویا به این منظور مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Cho & Rhee, 2002). پروتئین سویا پوششی با بافت یکنواخت، شفاف و انعطاف‌پذیر ایجاد می‌کند که نسبت به نفوذ اکسیژن و چربی بسیار مقاوم است (Cho et al., 2007). فیلم پروتئین سویا برای پوشش‌دهی کشمش و خشکبار مناسب است و از دست رفتن رطوبت در آن‌ها را کاهش می‌دهد و نیز پوشش پروتئین سویا در محصولات سرخ شده باعث کاهش جذب روغن می‌شود و از تبادل رطوبت جلوگیری می‌کند (Albert & Gauri, 2002).

گیاهان جنس آستراگالوس گیاهانی علفی بصورت بوته‌های چوبی خاردار و یا عاری از خار می‌باشند که صمغ کتیرا از گونه‌های بوته مانند و دارای ساقه‌های چوبی آن، که اصطلاحاً گون نامیده می‌شوند، بدست می‌آید. این گیاه در کشورهای ایران، سوریه، ترکیه و برخی نقاط دیگر از قاره آسیا می‌روید (Lapasin & Priel, 1995). کتیرا متشکل از دو جزء اصلی تحت عنوان تراگاکانتیک اسید یا باسورین و تراگاکانتین است. باسورین، ۶۰-۷۰ درصد از کل صمغ را به خود اختصاص داده است و جزء نامحلول در آب می‌باشد که قابلیت تورم و تشکیل ژل را داراست. جزء دیگر یا تراگاکانتین نیز، در آب حل شده و منجر به ایجاد محلول کلوئیدی می‌شود (مویدی و همکاران، ۱۳۹۲). صمغ کتیرا در صنایع غذایی به‌عنوان پایدارکننده، امولسیون‌کننده، قوام‌دهنده، جایگزین چربی و در داروسازی به‌عنوان عامل ژل‌ساز، معلق‌ساز و به‌عنوان اتصال‌دهنده در تهیه قرن‌ها و داروها استفاده می‌شود. علاوه بر این کتیرا از رشد سلول‌های سرطانی نیز ممانعت می‌کند (Morton, 1977; Albert et al., 1996).

بطور کلی پایین بودن مقاومت مکانیکی فیلم ایزوله پروتئین سویا و بالا بودن نفوذپذیری بالای آن به بخار آب در مقایسه با فیلم‌های سنتزی مشکل مشترک در تمام تحقیقات انجام شده می‌باشد (Shahabi et al., 2015). بر اساس یافته‌های منتشر نشده این گروه تحقیقاتی از آنجایی که مقاومت کششی و قیمت کتیرا نسبت به فیلم ایزوله پروتئین سویا بسیار بیشتر و مقدار نفوذپذیری به بخار آب در کتیرا نسبت به فیلم ایزوله پروتئین سویا کمتر است. از این‌رو هدف



شکل ۱- تصاویر فیلم های تهیه شده از فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا: کتیرا به ترتیب با نسبت‌های الف) ۴/۵: ۰/۵، ب) ۴/۷: ۰/۳ و ج) ۴/۹: ۰/۱

استاندارد ASTM-D882-10 محاسبه شدند (ASTM, 2010). این

آزمون در مورد هر کدام از نمونه‌ها در پنج تکرار انجام شد.

$$TS = F_{Max} / A_{min} \quad (1)$$

$$EB = (L_{Max} / L_0) \times 100 \quad (2)$$

که در اینجا F_{Max} بیشترین نیروی کششی، A_{min} حداقل سطح مقطع، L_{Max} بیشترین ازدیاد طول در نقطه پاره شدن و L_0 طول اولیه فیلم را نشان می‌دهد.

اندازه‌گیری خواص فیزیکی

حلالیت در آب

برای انجام آزمون، فیلم‌ها در ابعاد $2 \times 2 \text{ cm}^2$ بریده شد و به مدت ۲۴ ساعت داخل آون (دمای 100°C) قرار گرفتند. سپس نمونه‌های خشک شده، توزین و داخل بشرهای حاوی ۵۰ میلی لیتر آب مقطر قرار داده شد. بشرها در دمای 25°C ، به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. در این مدت محتویات بشرها چند مرتبه هم زده شدند. سپس قطعات باقی مانده، داخل آون (دمای 100°C) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و در پایان با ترازو (ترازوی ۰/۰۱، Precisa، ساخت ایران) توزین شدند. حلالیت فیلم‌ها با استفاده از فرمول (۳) محاسبه گردید (فاضل و

اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها

برای تعیین ضخامت فیلم‌ها از میکرومتر دستی Alton (با دقت 0.01 mm ، ساخت چین) استفاده شد. اندازه‌گیری در ۵ نقطه‌ی مختلف فیلم انجام گرفت و سپس ازمیانگین آن‌ها در محاسبات نفوذپذیری نسبت به بخار آب استفاده شد.

اندازه‌گیری خواص مکانیکی

آزمایش کشش با استفاده از دستگاه اینستران testing machine Instron universal (مدل ۷۰۱۰، ساخت شرکت گوتک تایوان) انجام گرفت. قبل از انجام آزمایش تمامی نمونه‌ها در طوبت نسبی ۵۰-۵۵ درصد مشروط گردیدند. فیلم‌ها به ابعاد 1×8 سانتی متر مربع بریده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه ۷ سانتی متر و سرعت حرکت فک پایین 50 mm/min انتخاب شد. فاکتورهای مقاومت کششی (TS^1) برحسب مگاپاسکال، ازدیاد طول تا نقطه شکست (ETB^2) برحسب درصد، (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰) با استفاده از فرمول‌های ۱ و ۲ بر اساس روش

1 Tensile test

2 Elongation to Break

ساعت یکبار تا رسیدن به تعادل رطوبتی، با ترازو با دقت $g/0.001$ توزین شدند. در تمام نمونه‌ها با رسم نمودار بر اساس افت وزن فنجانک‌ها (Δm) نسبت به زمان (Δt)، یک خط راست حاصل شد. میزان تراوایی به بخار آب (WVTR) بر حسب (g/m^2s) معادل با شیب خطوط حاصله تقسیم بر سطح در معرض (A) بود و از فرمول (۶) محاسبه شد

$$WVPR = (\Delta m) / A \times \Delta t \quad (6)$$

از ضرب نمودن میزان تراوایی به بخار آب در میانگین ضخامت فیلم‌ها (x) و تقسیم آن بر اختلاف فشار جزئی (ΔP) بین درون و بیرون فنجان (۳۱۷۹ Pa) میزان نفوذپذیری بخار آب بر حسب $(g/m^2 s Pa)$ بدست آمد، که به کمک فرمول (۷) محاسبه شد (فاضل و همکاران، ۱۳۹۱؛ عبدالهی و همکاران، ۱۳۹۰). این آزمون در سه تکرار انجام شد.

$$WVP = (\Delta m \times X) / A \times \Delta t \times \Delta P \quad (7)$$

تعیین رنگ فیلم با رنگ‌سنج Hunter Lab

رنگ فیلم‌ها با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج هانتربل (Hunter Lab، ساخت آمریکا) مورد بررسی قرار گرفتند. میزان رنگ با استفاده از پارامترهای رنگی بر حسب سفیدی-سیاهی (L)، قرمزی-سبزی (a) و زردی-آبی (b) بیان شد. مقادیر L^* ، a^* و b^* با استفاده از کاشی سفید استاندارد مخصوص دستگاه بصورت شاهد مشخص شد و سپس پارامترهای رنگی نمونه‌ها با استفاده از پس زمینه سفید استاندارد بررسی شد. تغییر رنگ کلی (ΔE) با استفاده از فرمول (۸) و اندیس زردی (YI) با استفاده از فرمول (۹) و اندیس سفیدی (WI) با استفاده از فرمول (۱۰) محاسبه شدند (سرمدی زاده و همکاران، ۱۳۹۲؛ Ahmadi et al., 2012). این آزمون در سه تکرار انجام شد.

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (8)$$

$$YI = 142.86 b/L \quad (9)$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2} \quad (10)$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

ارزیابی آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ و با استفاده از نرم افزار (SPSS) صورت گرفت.

نتایج و بحث

خصوصیات ظاهری و رنگ

همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است هر سه فیلم زرد رنگ هستند و هرچه نسبت کتیرا به ایزوله پروتئین سویا افزایش یافته

همکاران، ۱۳۹۱). این آزمون در سه تکرار انجام شد.

(۳) وزن ماده اولیه تکه فیلم / (وزن فیلم خشک پس از غوطه‌وری - وزن ماده خشک اولیه تکه فیلم) = درصد حلال

اندازه‌گیری رطوبت

پس از آنکه فیلم‌ها در دمای $25^\circ C$ و رطوبت نسبی ۵۵ درصد به تعادل رطوبتی رسیدند. میزان رطوبت آن‌ها تعیین شد. رطوبت بر اساس مقدار افت وزن نمونه مشخصی از فیلم در طی خشک کردن در $105^\circ C$ اندازه‌گیری شد. برای انجام این آزمایش، ابتدا ظروف آلومینیومی در دمای $105^\circ C$ به وزن ثابت رسانیده شدند. آنگاه ظروف، در دسیکاتور خنک شده و با ترازو تا دقت 0.001 گرم وزن شدند. تکه‌های فیلم با وزن مشخص در ظروف قرار داده شد و در دمای $105^\circ C$ به وزن ثابت رسانیده شد. محتوای رطوبت فیلم‌ها به کمک فرمول ۴ محاسبه گردید. این آزمون در سه تکرار انجام شد (قنبرزاده و الماسی، ۱۳۸۸).

$$(4) \quad (100 \times (\text{وزن نمونه مرطوب} / \text{وزن خروجی رطوبت})) = \text{درصد رطوبت بر مبنای وزن مرطوب}$$

میزان جذب آب

نمونه‌هایی از فیلم‌ها با ابعاد $2 \times 2 \text{ cm}^2$ تهیه شد و در دسیکاتور حاوی کلرید کلسیم خشک تا رسیدن به وزن ثابت (m_1)، قرار گرفتند. پس از توزین اولیه، نمونه‌ها به دسیکاتور حاوی نیترا ت منیزیم اشباع در دمای $25^\circ C$ و رطوبت نسبی ۵۰-۵۵ درصد منتقل شد سپس نمونه‌ها در فواصل زمانی معین تا رسیدن به حالت تعادل، وزن شدند (m_2). میزان جذب آب از رابطه ۵ محاسبه شد (قنبرزاده و الماسی، ۱۳۸۸). این آزمون در سه تکرار انجام شد.

$$(5) \quad (100 \times (m_2 - m_1) / m_1) = \text{درصد جذب آب}$$

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

آزمون‌های نفوذپذیری به بخار آب برای فیلم‌ها بر اساس استاندارد ASTM-E95-96 انجام شد (ASTM, 1995). برای انجام این آزمون از فنجانک‌های آلومینیومی با قطر ۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۵ سانتی‌متر استفاده شد. فنجان‌ها با آب مقطر در حالی که ۱۹ میلی‌متر از سر آن خالی بود پر شدند، که باعث ایجاد رطوبت نسبی ۱۰۰٪ در فضای داخلی فنجان می‌شود. پس از پر نمودن فنجانک‌ها نمونه‌های فیلم بریده شده، به اندازه ابعاد دهانه فنجانک، بر روی دهانه که به منظور آب‌بندی و عدم نفوذپذیری چرب شده است قرار داده شد. سپس فنجانک‌ها درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار داده شد و در دمای $25^\circ C$ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. فنجانک‌ها هر

بیشترین مقدار مربوط به نمونه C و کمترین مقدار مربوط به نمونه A می‌باشد و بطور کلی نمونه‌های A، B و C در همه پارامترها اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($p < 0.05$) (جدول ۱). پارامترهای رنگی فیلم‌های مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی، به دلیل اثرات آن‌ها در مقبولیت و کیفیت ماده غذایی، از اهمیت زیادی برخوردار است. در نتایج سرم‌زداده و همکاران (۱۳۹۲) نیز، افزایش غلظت پروتئین باعث تغییر رنگ فیلم‌ها شده بود.

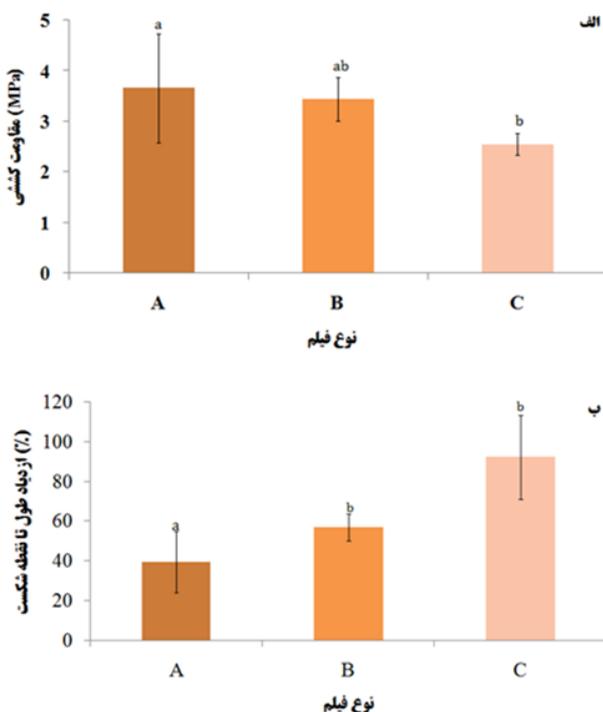
است رنگ فیلم روشن‌تر شده است. برای ارزیابی کمی رنگ نمونه‌ها از فاکتورهای رنگ‌سنجی دستگاه هانت‌لب استفاده شد. این فاکتورها عبارتند از: پارامترهای سفیدی-سیاهی (L)، قرمزی-سبزی (a) و زردی-آبی (b)، تغییر رنگ کلی (ΔE)، اندیس زردی (YI) و اندیس سفیدی (WI). در پارامترهای (L) و (a) و اندیس سفیدی (WI) بیشترین مقدار مربوط به نمونه A و کمترین مقدار مربوط به نمونه C می‌باشد. ولی در پارامتر (b) و تغییر رنگ و اندیس زردی (YI)

جدول ۱- خصوصیات رنگ‌سنجی فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا-کتیرا با تغییر نسبت اجزاء سازنده

WI	YI	ΔE	b	a	L	نمونه	ایزوله پروتئین سویا	
							کتیرا	سویا
۷۳/۶۲±۰/۰۰ ^a	۳۳/۷۸±۰/۰۰ ^c	۲۰/۵۸±۰/۰۰ ^c	۱۹/۶۶±۰/۰۰ ^c	-۴/۹۹±۰/۰۱ ^a	۸۳/۱۴±۰/۰۰ ^a	A	۰/۵	۴/۵
۷۱/۳۰±۰/۰۱ ^b	۳۷/۱۶±۰/۰۲ ^b	۲۲/۷۷±۰/۰۱ ^b	۲۱/۱۶±۰/۰۱ ^b	-۵/۲۸±۰/۰۱ ^b	۸۱/۳۶±۰/۰۱ ^b	B	۰/۳	۴/۷
۶۸/۹۳±۰/۰۱ ^c	۴۲/۰۲±۰/۰۱ ^a	۲۵/۳۶±۰/۰۱ ^a	۲۳/۸۳±۰/۰۱ ^a	-۵/۹۷±۰/۰۱ ^c	۸۱/۰۱±۰/۰۰ ^c	C	۰/۱	۴/۹

حروف غیرمشابه در یک ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد

در حدود دو برابر افزایش می‌یابد. ولی در این شرایط افزایش صمغ در میزان کشش‌پذیری فیلم تاثیر معنی‌داری نداشته است.



شکل ۲- الف) تغییرات مقاومت کششی (ب) ازدیاد طول تا نقطه شکست فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا: کتیرا به ترتیب با نسبت‌های ۰/۱: ۴/۹، ۰/۳: ۴/۷، ۰/۵: ۴/۵

حلالیت در آب

یکی از ویژگی‌های مهم فیلم‌های خوراکی مقاومت آن‌ها در برابر آب و نامحلول بودن آن‌ها در آب می‌باشد تا در مواردی که فعالیت آبی ماده غذایی بالا است یا هنگامی که ماده غذایی پوشش‌دهی شده در طی فراوری در تماس با آب قرار می‌گیرد بتواند یکپارچگی خود را

خواص مکانیکی

همانطور که در شکل ۲- الف نشان داده شده است، مقاومت کششی نمونه B، اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های A و C ندارد، ولی مقاومت کششی نمونه‌های A و C دارای اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) با همدیگر هستند. بطور کلی نمونه A بیشترین و نمونه C کمترین مقاومت کششی را نشان داده است. از سوی دیگر بر اساس نتایج ازدیاد طول تا نقطه شکست (شکل ۲- ب)، نمونه‌های A و B هیچ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارد، ولی نمونه C نه تنها بیشترین ازدیاد طول تا نقطه شکست را داشته است بلکه با هر دو نمونه A و B دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بوده است. بطور کلی می‌توان استنباط کرد که با افزایش غلظت کتیرا و کاهش میزان ایزوله سویا، مقاومت کششی نمونه‌ها افزایش یافته است و ولی بطور هم‌زمان مقدار ازدیاد طول تا نقطه شکست کاهش یافته است. بنظر می‌رسد ایجاد شبکه سه بعدی مستحکم و اتصالات عرضی بیشتر و قوی‌تر در بین زنجیرهای پروتئین ایزوله سویا و کتیرا مهمترین عامل در مشاهده چنین پدیده‌ای است (Tian et al., 2011). تحقیقات پیش از این هم نشان داده است که افزودن پلی‌ساکارید به پروتئین باعث افزایش استحکام کششی نهایی و کاهش ازدیاد طول تا نقطه شکست می‌شود (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸). نتایج فاضل و همکاران (۱۳۹۱) بیانگر آن است که افزایش مقدار کتیرا باعث افزایش چشم‌گیر مقاومت به کشش فیلم می‌شود. این در حالی است که میزان کتیرا تاثیری در میزان کشش‌پذیری فیلم نداشته است. نتایج Lai و Chen (۲۰۰۸) بیانگر آن بود که، در فیلم نشاسته تاپیوکا- صمغ برگ گیاه هسین-تسائو^۱ اگر در حدود ۰/۳ درصد از این صمغ استفاده شود، میزان مقاومت به کشش

افزایش نسبت کتیرا به ایزوله پروتئین سویا کاملاً طبیعی است. Kim و همکاران (۲۰۰۲) در بررسی خصوصیات فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا-موم سورگوم به نتیجه‌ای مشابه تحقیق پیش‌رو دست یافتند. این در حالی است که فاضل و همکاران (۱۳۹۱) نشان داده‌اند که افزودن کتیرا به فیلم نشاسته سیب زمینی-کتیرا هیچ تأثیری بر حلالیت نمونه‌ها در آب ندارد. بنظر می‌رسد میزان حلالیت فیلم‌ها وابسته به نوع ترکیبات سازنده ماتریکس پلیمر و نسبت آن‌ها است.

حفظ کند (Gontard *et al.*, 1994). همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، حلالیت نمونه C در آب بیشترین و حلالیت نمونه B در آب کمترین می‌باشد. با این وجود اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) بین نمونه A و B وجود ندارد. بطور کلی می‌توان گفت با زیاد شدن میزان کتیرا حلالیت فیلم حاصل در آب کاهش می‌یابد. با توجه به نامحلول بودن تراگانیک اسید (باسورین) موجود در کتیرا (مویدی و همکاران، ۱۳۹۲) و حلالیت بالای پروتئین‌های کروی سویا در آب (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸)، کاهش حلالیت نمونه‌ها در آب با

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا-کتیرا با تغییر نسبت اجزاء سازنده

WVP ($\times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ pa}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	جذب آب (%)	رطوبت (%)	حلالیت در آب (%)	کد نمونه	نمونه	
					کتیرا	ایزوله پروتئین سویا
$3/51 \pm 0/41^b$	$13/78 \pm 0/22^a$	$37/53 \pm 1^a$	$28/69 \pm 0/8^b$	A	۰/۵	۴/۵
$3/4 \pm 0/19^b$	$13/77 \pm 0/51^a$	$34 \pm 0/72^b$	$28/63 \pm 0/31^b$	B	۰/۳	۴/۷
$4/86 \pm 0/61^a$	$14/25 \pm 0/87^a$	$33/86 \pm 0/35^b$	$30/33 \pm 0/36^a$	C	۰/۱	۴/۹

حروف غیرمشابه در یک ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد

میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

مواد بسته‌بندی بایستی تا حد امکان، حداقل نفوذپذیری نسبت به بخار آب را داشته باشند تا بتوانند از تبادل رطوبت بین محیط و ماده‌ی غذایی ممانعت کنند. بطور کلی آب‌دوستی پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها و استفاده از پلاستی‌سایزهای آب‌دوست مانند گلیسرول در فرمولاسیون بیوپلیمرها آن‌ها را در برابر نفوذ بخار آب مستعد می‌سازد (صارم نژاد و همکاران، ۱۳۸۸). همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است. با افزایش نسبت کتیرا به ایزوله پروتئین سویا مقدار WVP بطور چشمگیری کاهش یافته است. ولی هم‌چنان مقدار WVP این نمونه‌ها بسیار بیشتر از پلیمرهای نفتی است. بنظر می‌رسد ایجاد اتصالات عرضی بین رشته‌های پروتئینی و کربوهیدراتی، فضای آزاد بین زنجیره‌ها و تحرک آن‌ها را کاهش داده است (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۸۸؛ Rhim *et al.*, 1999). به این ترتیب نفوذ و انتشار مولکول‌های بخار آب در بیوپلیمر ایزوله پروتئین سویا-کتیرا کاهش یافته است. سایر محققین نیز نشان داده‌اند که کامپوزیت کردن ایزوله پروتئین سویا با موم سورگوم و پروپیلن‌گلیکول آلزینات می‌تواند بطور چشمگیری مقدار WVP را کاهش دهد (Kim *et al.*, 2002; Rhim *et al.*, 1999).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش نسبت کتیرا به ایزوله پروتئین سویا مقاومت کششی فیلم افزایش و بطور هم زمان ازدیاد طول تا نقطه شکست کاهش می‌یابد. میزان رطوبت موجود در فیلم با افزایش کتیرا افزایش یافته است در حالی که میزان حلالیت در آب، جذب آب و WVP با افزایش نسبت کتیرا به ایزوله پروتئین سویا

میزان رطوبت

همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است بیشترین میزان رطوبت در نمونه A و کمترین مقدار رطوبت در نمونه B و C مشاهده شده است. بطور کلی می‌توان گفت میزان رطوبت موجود در فیلم با کاهش پروتئین و افزایش کتیرا افزایش قابل توجهی پیدا می‌کند. بنظر می‌رسد این پدیده به خاطر افزایش فشردگی ماتریس پلیمر در اثر چنین برهم‌کنش‌هایی و به دام افتادن آب بیشتر در ساختار پلیمر است. از سوی دیگر آب دوستی و زل‌سازی بسیار بالای کتیرا به خاطر حضور باسورین (شکری و همکاران، ۱۳۸۳؛ مویدی و همکاران، ۱۳۹۲) باعث جذب آب بیشتر توسط کتیرا و افزایش رطوبت فیلم‌ها با افزایش مقدار کتیرا شده است.

میزان جذب آب

هرچند میزان جذب آب در نمونه C بیشتر از سایر نمونه‌ها است ولی هیچ اختلاف معنی‌داری بین میزان جذب آب در نمونه‌ها وجود ندارد (جدول ۲). با توجه به اینکه پروتئین سویا می‌تواند تا ۶ برابر وزن خود آب جذب کند (رواقی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Fishman *et al.*, 1997) بنظر می‌رسد افزایش نسبت آن باعث افزایش میزان جذب آب در نمونه C شده است. ولی قابلیت جذب آب بالای باسورین موجود در کتیرا (مویدی و همکاران، ۱۳۹۲) باعث شده است که تغییرات نسبت ایزوله پروتئین سویا و کتیرا هیچ تأثیری بر مقدار جذب رطوبت نداشته باشد. علاوه بر این وجود مقادیر زیاد نرم‌کننده‌ها آب دوست گلیسرول نیز این امر را تشدید کرده است.

کاهش یافته است. در اثر افزودن کتیرا به فیلم ایزوله پروتئین سویا خصوصیات ظاهری و رنگ فیلم‌ها بهبود پیدا کرده است. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که فیلم زیست تخریب‌پذیر ایزوله پروتئین سویا-کتیرا دارای ویژگی‌های مطلوبی جهت کاربرد در بسته‌بندی مواد غذایی می‌باشد.

منابع

خدایاری، م.، ۱۳۸۹، بسته بندی های خوراکی برای مواد غذایی. ماهنامه فناوری نانو، ۱۰(۹): پی‌پی ۱۵۹.

رواقی، م.، مظاهری تهرانی، م. و آسوده، ا.، ۱۳۹۲، اثر میزان چربی آرد سویا بر ویژگی های شیمیایی و عملکردی ایزوله پروتئینی آن. نشریه پژوهش های صنایع غذایی، ۳۳(۱): ۵۹-۶۷.

سرمدی زاده، د.، بدیعی، ف.، مفتون آزاد، ن.، احسانی، م. ر. و عامری شهرابی، آ.، ۱۳۹۲، بررسی اثر گلیسرول و سوربیتول بر ویژگی های فیلم های خوراکی ایزوله پروتئین سویا به روش سطح پاسخ. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۴۰(۱۰): ۱۰۳-۱۱۶.

شکری بوسجین، ز.، کدیور، م. و کرامت، ج.، ۱۳۸۳، بررسی رابطه ساختمان و خواص عملکردی و رئولوژیکی صمغ کتیرا و مقایسه آن با صمغ عربی و کاربرد آن در کیک. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، ۱۰۶.

صارم نژاد، س.، عزیزی، م. ح.، برزگر، م. و عباسی، س.، ۱۳۸۸، بررسی اثر pH و غلظت پلاستی سایزر روی ویژگی های فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین باقلا. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۲(۶): ۹۳-۱۰۳.

عبداللهی، م.، رضایی، م. و فرزی، غ.، ۱۳۹۰، تهیه و ارزیابی خصوصیات نانوکامپوزیت زیست تخریب پذیر کیتوزان/ نانورس جهت کاربرد در بسته بندی مواد غذایی. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی، ۷(۱): ۷۱-۷۹.

فاضل، م.، عزیزی، م. ح.، عباسی، س. و برزگر، م.، ۱۳۹۱، بررسی تاثیر کتیرا، گلیسرول و روغن روی خصوصیات فیلم خوراکی بر پایه نشاسته سیب زمینی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۳۴(۹): ۹۷-۱۰۶.

قنبرزاده، ب.، و الماسی، ه.، ۱۳۸۸، بررسی ویژگی های فیزیکی فیلم های مرکب زیست تخریب پذیر خوراکی کربوکسی متیل سلولز - اسید اولئیک. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۲(۶): ۳۵-۴۲.

قنبر زاده، ب.، الماسی، ه. و زاهدی، ی.، ۱۳۸۸، بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر و خوراکی در بسته بندی مواد غذایی و دارویی. تهران: انتشارات دانشگاه صنعتی امیر کبیر (پلی تکنیک تهران).

مویدی، س.، صادقی ماهونک، ع.، عزیزی، م. ح. و مقصدلو، ی.، ۱۳۹۲، بررسی اثر صمغ کتیرا بر ویژگی های کیفی نان حجیم. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۳۸(۱۰): ۱۰۴.

- Ahmadi, R., Kalbasi-Ashtari, A., Oromiehie, A., Yarmand, M. S. & Jahandideh, F., 2012, Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata* Forsk). *Journal of Food Engineering*, 109(4): 745-751.
- Albert, Y., Leung, A. & Steven, F., 1996, Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food Drugs and Cosmetic. *Food Chemistry*, 59(2): 321.
- Albert, S. & Gauri, M., 2002, Comparative evaluation of edible coatings to reduce fat uptake in a deep-fried cereal product. *Food Research International*, 35: 445-458.
- ASTM, 1995, Standard test methods for water vapor transmission of material, E 96-95. Annual book of ASTM, American Society for Testing and Material.
- ASTM., 2010, Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, D882-10. Annual book of ASTM, American National Standards Institute (ANSI).
- Bertuzzi, M.A., Vidaurre, E.F.C., Armada, M. & Gottifredi, J.C., 2007, Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*, 80:972-978.
- Cao N., Fu, Y. & He, J., 2007, Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. *Food Hydrocolloids*, 21:1153-1162.
- Chen, C. H. & Lai, L. S., 2008, Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum films in the presence of plasticizer. *Food Hydrocolloids*, 22: 1584-1595.
- Cho, Y. S. & Rhee, C., 2002, Sorption characteristics of soy protein films and their relation to mechanical properties. *LWT- Food Science and Technology*, 35:151-157.
- Cho, Y. S., Park, J. W., Batt, H. T. & Thomas, R. L., 2007, Edible films made from processed soy protein concentrates. *LWT- Food Science and Technology*, 40: 418-423.
- Fishman, M. L., 1997, Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology*, 51: 60-74.

- Gontard, N., Duchez, C., Cuq, B. & Guilbert, S., 1994, Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *Food Science and Technology*, 29:39-50.
- Kim, K. M., Hwang, K. T., Weller, C. L. & Hanna, M. A., 2002, Preparation and Characterization of Soy Protein Isolate Films Modified with Sorghum Wax. *J10122 in JAOCs*,79: 615-619.
- Lapasin, R. & Prici, S., 1995, Rheology of industrial polysaccharides: theory and applications. *Blackie Academic & Professional, London*.
- Londhe, S. V., Joshi, M. S., Bhosale, A. A. & Kale, S. B., 2011, Isolation of quality soy protein from soya flakes. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2: 1175- 1177.
- Morton, J. F., 1977, Major Medicinal Plants. *ILLINOIS: Springfield, : Charles C. Thomas*, 356-375.
- Rhim, J. W., Wu, Y., Weller, C. L. & Schnepf, M., 1999, Physical Characteristics of a Composite Film of Soy Protein Isolate and Propyleneglycol Alginate. *Food Science & Technology*, 64:149-152.
- Rhim, J.W., 2007, Natural Biopolymer- Based Nanocomposite Films for Packaging Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47:411-433.
- Russo, M.A.L., Sullivan, C., Rounsefell, B., Halley, P. J., Truss, R. & Clarke, W.P., 2009, The anaerobic degradability of thermoplastic starch:Polyvinyl alcohol blends: Potential biodegradable food packaging materials. *Bioresource Technology*,100:1705-1710.
- Salmoral E.M., Gonzalez, M. E., Mariscal, M. P. & Medina, L. F., 2000, Comparison of chickpea and soy protein isolate and whole flour as biodegradable plastics. *Industrial Crops and Products*, 11:227-236.
- Shahabi-Ghahafarrokh, I., Khodaiyan, F., Mousavi, S. M. & Yousefi, H., 2015, Effect of γ -irradiation on the physical and mechanical properties of kefiran biopolymer film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74: 343–350.
- Siracusa, V., Rocculi, P., Roman, S. & Dalla Rosa, M., 2008, Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science & Technology*,19:634-643.
- Tharanthan, R.N., 2003, Biodegradable films and composite coatings:past , present and future. *Food Science & Technology*, 14:71-78.
- Tian, H., Xu, G., Yang, B. & Guo, G., 2011, Microstructure and mechanical properties of soy protein/agar blend films: Effect of composition and processing methods. *Journal of Food Engineering*,107: 21-26.

Production and Investigation of physical and mechanical properties of soy protein isolate - tragacanth based composite film

H. Separdar¹, E. Rahimi^{2*}, I. Shahabi-Ghahfarrokhi³, B. Aghabarari⁴

Received: 2014.12.23

Accepted: 2015.08.01

Introduction: One of the most important problems of synthetic packaging of materials had been the time consuming process of their decomposition. Therefore, they have the potential to contaminate the environment. During the recent years, the above-mentioned problem has paved the way for developing biodegradable biopolymers. One group of these polymers is films and edible coatings. Soy protein isolate is the purest type of soy protein which is available commercially and amount of its protein is more than 90% (based dry weight). These films have better nutritional value. In addition, they have better mechanical features and permeability than films made of carbohydrates and fats. Tragacanth gum is composed of two main ingredients under the name of Tragacantic acid or Basorin and Tragacantin. Basorin is in 60-70% of whole gum and is insoluble in the water. It can swell and make gel. Also, another ingredient or Tragacantin solves in the water and leads to make colloid solution. Hence, the main purpose of this work is studying effect of tragacanth gum as a supplementary and firmness-making material on physical and mechanical features of soy protein isolate film and are determining the best level of tragacanth gum and optimal film for using in food packaging.

Materials and methods: A specified amount of soy protein isolate was solved in distilled water. Then, pH of solution was set on 10 by NaoH (0.1N). Solution of soy protein isolate was heated by bain-marie to 70°C. Afterwards, solution of tragacanth gum with suitable amount of treatment which was solved separately in the water was added to solution of soy protein isolate slowly during agitating by magnetic mixer. Then, glycerol was added to the final solution as plasticizer. Final solution was agitated by magnetic mixer about 15 minutes to become smooth and pure. After degassing, the film forming solutions were casted by pouring the mixture onto polystyrene plate (10 cm diameter) and dried at 25±5°C for 48 h in a laboratory oven and room relative humidity. Finally, the dried films were peeled off the casting surface. Film solutions were prepared from soy protein isolate with ratio of 0.5:4.5(A), 0.3:4.7(B) and 0.1:4.9(C), tragacanth gum: soy protein isolate and plasticizer of glycerol were prepared in 100gr water with ratio of 90% (w/w) dry weight. According to plasticizer effect of water, to uniform moisture before performing each test, all the films were conditioned inside desiccators containing saturated magnesium- nitrate solution to ensure a relative humidity Of 50-55% at 25°C ± 1 for 48 h.

Tensile strength (TS) and elongation at break (EB) were conducted by using tensile evaluation machine (7010, Gotec of Taiwan) according to ASTM standard method D882-10 (ASTM, 2010).

Films were cut in the dimension of 2×2 cm² and dried to reach constant weight at 100 °C in a laboratory oven. Dried samples weighed to determine the initial dry weight (m₁) and placed inside beaker including 50 ml of distilled water with periodic stirring for 24 h at 25°C. Afterwards, the remained pieces of films were taken out and dried at 100°C to reach constant weight (m₂).

After the films reached in moisture balance at 25°C and a proportional humidity at %55. Their moisture was determined by measuring the loss amount of film weight during drying in a laboratory oven at 105°C until constant weight.

The specimens of films was provided at 2×2cm² dimensions and prepared by dried calcium chloride until reached to constant weight (m₁). After the initial weight, they were conditioned in a desiccator containing saturated magnesium nitrate solution at 25°C to provide reaching a relative humidity of %50-55. Then, the specimens were weighed in regular intervals until the equilibrium state was reached (m₂).

Water vapor permeability tests of films were performed according to ASTM- E95-96 standard (ASTM, 1995).The color of films was evaluated using a colorimeter device (LabscanXE, Hunterlab, USA).

Statistical analysis was conducted in a completely randomized design with variance analysis (ANOVA) using

1 and 2. Former Msc student and , Assistant Professor, Department of Food science and Technology, Faculty of Agriculture, Azad University of Zanjan, Zanjan.

3. Assistant Professor, Department of Food science and Technology, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan.

4. Assistant Professor, Energy and Materials Research Branch of Karaj.

(*-Corresponding Author Email: Ebrahimrahimi55@yahoo.com)

SPSS software (Version 21; SPSS Inc., USA). Also, comparing the difference among mean values of film specimens was performed using Duncan's multiple range tests at the confidence level of 95%.

Results and Discussion: The obtained results indicated that tensile test (TS) of film was increased by increasing tragacanth gum and decreasing soy protein isolate but elongation to break (ETB) decreased. This result was agreed with the results of Fazel et al (2013), Tian et al (2011), Chen and Lai (2008). The amount of film moisture increased by increasing tragacanth gum, while amount of solubility in water, water absorption decreased by increasing tragacanth gum. The highest of wvp was observed in SPI: TG (4.9:0.1) but the lowest value was related to the sample SPI: TG (4.7:0.3). In general, the amount of wvp decreased by increasing tragacanth gum. The free space between chains decreases by forming transversal connections between protein filaments. Also, filaments mobility decreases, while penetration and spread of vapor molecules from polymer will decrease and its prevention becomes more in the water. The highest L, a, and whiteness index was observed in SPI: TG (4.5:0.5). In contrary, the highest b, total color difference (ΔE), and yellowness index was observed in SPI: TG (4.9:0.1). Optical properties of films used in food packaging are very important for their effects on acceptance and food quality. Results of Sarmadizadeh et al. (2014) showed that increasing protein has changed films color. Therefore, adding tragacanth gum caused to improve the structure and to improve physicochemical properties of the samples. It could be concluded biodegradable film of SPI+TG has desirable characteristics for the application in food packaging.

Key words: Biopolymer, Soy protein isolate, Tragacanth gum, Bio-degradable.

تاثیر روش‌های مختلف پخت بر تغییرات اسیدهای چرب آزاد، تیوباریتوریک اسید، فلزات سنگین (نیکل، کروم، کبالت، کادمیوم، سرب) و خواص حسی ماهی آمور (*Ctenopharyngodonidella*)

سارا گل گلی پور^۱، آی ناز خدانظری^{۲*} و کمال غانمی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۳۰

چکیده

این پژوهش با هدف تاثیر روش‌های پخت (بخارپز، آب‌پز، میکروویو، سرخ کردن تابه‌ای، سرخ کردن عمیق) بر تغییرات اسیدهای چرب آزاد، تیوباریتوریک اسید، فلزات سنگین (کبالت، سرب، کادمیوم، کروم، نیکل) و خواص حسی ماهی آمور (*Ctenopharyngodonidella*) انجام شد. پخت ماهی آمور طبق تکنیک‌های معمول مصرف‌کننده تهیه شد: آب‌پز، بخارپز، سرخ کردن تابه‌ای (بدون افزودن روغن)، سرخ کردن عمیق (در روغن زیتون) و میکروویو. روش‌های پخت بخارپز و سرخ کردن عمیق منجر به افزایش تیوباریتوریک اسید شد، در حالی که در روش‌های پخت آب‌پز و سرخ کردن تابه‌ای میزان تیوباریتوریک اسید تغییری نداشتند. میزان اسیدهای چرب آزاد فیله‌ها با روش‌های مختلف پخت بطور معنی‌داری کاهش یافت. نیکل در روش‌های پخت آب‌پز، سرخ کردن تابه‌ای و سرخ کردن عمیق شناسایی نشد. محتوی کروم در نمونه‌های پخته شده در مقایسه با سایر روش‌های پخت تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). محتوی کبالت در همه نمونه‌ها زیر محدوده شناسایی بود. کادمیوم تنها در روش پخت میکروویو شناسایی شد. مقدار سرب در طی پخت فیله‌ها افزایش یافت. نتایج خواص حسی نشان داد که بافت، بو، مزه رنگ و پذیرش کلی در روش پخت سرخ کردن عمیق، امتیاز مطلوبیت را بهبود بخشید و تفاوت معنی‌داری بین روش‌ها آب‌پز، بخارپز و سرخ کردن تابه‌ای وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: ماهی آمور، روش‌های پخت، تیوباریتوریک اسید، اسیدهای چرب آزاد، فلزات سنگین، خواص حسی.

مقدمه

روش‌های مختلف از قبیل آب‌پز کردن، گریل کردن و سرخ کردن، قبل از مصرف مورد فرآوری قرار می‌گیرد (Ersoy et al., 2006). از طرف دیگر، در سال‌های اخیر استفاده از روش‌های پخت دیگر مانند میکروویو و آن نیز بطور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است (Arias et al., 2003). گوشت قرمز و ماهی پخته شده دارای قابلیت هضم بیشتری در مقایسه با نمونه خام می‌باشند. گرما (آب‌پز، بخارپز، سرخ کردن، میکروویو) مورد استفاده در غذا، جهت افزایش طعم، مزه و غیرفعال نمودن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و افزایش ماندگاری محصول موثر می‌باشد (Ersoy and Özeren, 2009). هر چند که استفاده از حرارت می‌تواند منجر به تغییرات نامطلوب مانند کاهش ارزش تغذیه‌ای غذایی گردد. بیشترین تغییرات مسائل کیفی در تولیدات ماهی پخته شده در ارتباط مستقیم با کیفیت ماده خام اولیه است (Rodríguez et al., 2008).

بطور کلی سه روش پخت ماهی شامل حرارت خشک، حرارت مرطوب و روش‌های ترکیبی وجود دارد. در روش حرارت خشک، غذا

ماهی آمور (*Ctenopharyngodonidella*) یکی از گونه‌های مهم پرورشی در ایران می‌باشد که اصطلاحاً ماهی سفید پرورشی نیز نامیده می‌شود. مصرف ماهیان پرورشی به دلیل اینکه بصورت زنده یا خیلی تازه از استخر بدست مصرف‌کنندگان می‌رسند و همچنین به دلیل ارزان قیمت بودن، بسیار مورد توجه است. انجمن قلب آمریکا، استفاده حداقل ۲ بار ماهی در هفته را برای جلوگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی توصیه می‌کند (Ozogulet et al., 2006). در برخی کشورها، ماهی بصورت خام مصرف می‌گردد اما معمولاً از طریق

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۲- استادیار، گروه شیمی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

* - نویسنده مسئول: (Email: khodanazary@yahoo.com)

می‌باشد چون اسیدهای چرب آزاد می‌توانند به ترکیبات فرار بدبو تبدیل شوند (Ozyurt et al., Rezaei and Hosseini, 2008). با اینکه تولید اسیدهای چرب آزاد به خودی خود منجر به افت کیفیت تغذیه‌ای نمی‌شود اما آزمون میزان آبکافت چربی بنظر مهم می‌رسد چون آبکافت چربی در شرایط سرما نیز ادامه می‌یابد که تأثیر شدیدی بر اکسیداسیون چربی و دنا توره شدن پروتئین دارد (Aubourg, 1993). اسیدهای چرب آزاد ممکن است با پروتئین‌های میوفیبریل ترکیب شوند و منجر به دنا توره شدن پروتئین‌ها می‌گردد (Pacheco-Aguilar et al., 2000). تأثیر پرواکسیدانی اسیدهای چرب آزاد بر چربی نیز گزارش شده است بدین صورت که اسیدهای چرب آزاد بر گروه کربوکسیل اثر تحریک کننده^۶ داشته و تشکیل هیدروپروکسیدها و متعاقباً رادیکال‌های آزاد را تسریع می‌بخشد. علاوه بر این به دلیل کوچک بودن اندازه مولکول‌های اسید چرب آزاد نسبت به چربی‌های بزرگتر (مهمترین آنها تری‌آسیل - گلیسرول‌ها و فسفولیپیدها) بیشتر در معرض اکسیداسیون توسط آنزیم‌هایی چون لپازها و فسفولیپازها می‌باشد. این مسئله به شدت بر کیفیت حسی فرآورده‌های غذایی دریایی تأثیرگذار است (Losada et al., 2007).

علی‌رغم ارزش تغذیه‌ای ماهی از جمله اسیدهای چرب چند غیراشباع امگا ۳، اسیدهای آمینه ضروری، عناصر کمیاب و ویتامین‌ها، در غذاهای دریایی فلزات سنگین تجمع می‌یابند که برای سلامت انسان مضر می‌باشند (Kalogeropoulos et al., 2012). آلودگی محیط‌های آبی با فلزات سنگین به‌عنوان یکی از مسائل جدی در سال‌های اخیر مطرح است. فلزات سنگین در غلظت‌های بالا به دلیل سمیت و تجمع در بافت‌های تمام موجودات زنده بسیار خطرناک است (Emami-Khansari et al., 2005). بنابراین، تعیین غلظت فلزات سنگین در ماهیان بمنظور ارزیابی ریسک خطر مصرف ماهی در سلامت انسان دارای اهمیت می‌باشند (Ersoy and Özeren, 2009). عسگری و کمره‌ئی، (۱۳۸۸). مطالعات بسیاری جهت تعیین میزان فلزات سنگین در عضله ماهیان فرآوری شده انجام شده است (Atta et al., 1997; Ersoy and Özeren, 2009; Kalogeropoulos et al., 2012; Ersoy et al., 2006).

روش‌های مختلف پخت بر خصوصیات کیفی ماهیان از جمله بافت، طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی تأثیر دارد (قیومی جونیانی و همکاران، ۱۳۹۰). تولید بو و طعم در محصولات پخته شده فرآیند پیچیده‌ای است که در نتیجه واکنش ترکیبات متفاوت، محصولات ثانویه یا ترکیبات فرار^۷ تولید می‌گردد (Pérez-Palacios et al., 2013). رضوی شیرازی، (۱۳۸۰). ترکیبات فوران^۸ عامل مهمی در

با هوا یا روغن داغ یا (سرخ کردن تابه‌ای^۱، سرخ کردن عمیق^۲، گریل کردن^۳) پخته می‌شود. در روش حرارت مرطوب، غذا با مایع (معمولاً آب یا بخار آب) مانند آب‌پز کردن^۴، بخار پز کردن^۵ پخته می‌شود. روش‌های ترکیبی پخت که ترکیب روش‌های حرارت خشک و حرارت مرطوب می‌باشد (Moradietal., 2011).

ارزش تغذیه‌ای ماهی می‌تواند از طریق روش‌های مختلف فرآوری و پخت تحت تأثیر قرار گیرد (Gokoglu et al., 2004; Moradietal., 2011). مقدار و خصوصیات چربی غذا، بخصوص غذاهای دریایی، به دلیل نقش در سلامت انسان بسیار حائز اهمیت می‌باشند. چربی ماهی محتوی اسیدهای چرب با زنجیره طویل می‌باشد که دارای ۵ یا ۶ پیوند دوگانه می‌باشند (Bakaret et al., 2008). فرآیندهای حرارتی مانند پختن باعث برخی واکنش‌ها مانند اکسیداسیون چربی در غذا می‌شوند که منجر به ایجاد تغییرات در ترکیبات غذایی می‌گردند (Weber et al., 2008; Bakaret et al., 2008). لیپیدها در عضله تیره ماهیان در مقایسه با عضله سفید ممکن است به دلیل تفاوت ترکیبات اسیدهای چرب بیشتر در معرض اکسیداسیون چربی باشند (Tichivangana and Morrissey, 1982). تأثیر روش‌های مختلف پخت بر روی اکسیداسیون چربی در گونه‌های مختلف ماهیان مورد مطالعه قرار گرفته است (Gokoglu et al., 2004; Ersoy et al., 2006; Weber, Türkkan et al., 2008). اثرات روش‌های مختلف پخت بر روی کیفیت مغذی ماهیان از اهمیت زیادی برخوردار است. پیشرفت فرآیند اکسیداسیون چربی به روش، دما و زمان پخت بستگی دارد (Broncano et al., 2009). محصولات مواد اولیه اکسیداسیون (هیدروپرواکسیدها) ناپایدار و مستعد تجزیه می‌باشند. محصولات ثانویه اکسیداسیون شامل آلدئیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، اسیدهای آلی و ترکیبات اپوکسی می‌باشد (Shahidi and Zhong, 2005). مالون آلدئید یک ترکیب جزئی از اسیدهای چرب با سه پیوند دوگانه و با بیشتر از آن است که در اثر تجزیه اسیدهای چرب چندغیراشباعی طی اکسیداسیون چربی تشکیل می‌شود. این ماده معمولاً به‌عنوان شاخصی در ارزیابی روند تغییرات اکسیداسیون چربی استفاده می‌شود (Shahidi and Zhong, 2005). به اثبات رسیده است که محصولات حاصل از اکسیداسیون چربی منجر به تصلب شراین، بیماری آلزایمر، سرطان، تورم و قرمزی و پیری می‌گردد (Broncano et al., 2009). وجود اسید چرب آزاد به واسطه اکسایش و آبکافت آنزیمی چربی‌های استری بوده و یک ترکیب نامطلوب

- 1 Pan-frying
- 2 Deep-frying
- 3 Grilling
- 4 Poaching
- 5 Steaming

6 Catalytic effect

7 Volatile compounds

8 Furanic compounds

نمونه‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند.

روش‌های مختلف پخت

نمونه‌های فیله ماهی طبق روش ارائه شده در دستورالعمل پخت غذاهای دریایی (AOAC ۹۷۶/۱۶) پخته شدند (Larsen *et al.*, 2010). روش‌های پخت انتخاب شده در این تحقیق، روش‌های معمول فرآوری ماهی توسط مصرف‌کنندگان ایرانی بودند که شامل آب‌پز کردن^۱، بخارپز کردن^۲، مایکروویو، سرخ‌کردن تابه‌ای و سرخ‌کردن عمیق می‌باشند.

بخارپز کردن: فیله‌های ماهی در بخارپز استیل ضدزنگ، محتوی ۵۰۰ میلی‌لیتر آب جوش، بر روی ظرف‌های ضدزنگ قرار گرفتند و درب بخارپز گذاشته شدند. نمونه‌های فیله ماهی در بخارپز به مدت ۵ دقیقه و ۳۰ ثانیه قرار گرفتند تا فیله‌ها در نتیجه حرارت بخار آب پخته شدند. بعد از سپری شدن زمان پخت، فیله‌ها روی پارچه جذب قرار گرفتند (Larsen *et al.*, 2010).

آب‌پز کردن: فیله‌های ماهی در ظرف ضدزنگ، محتوی ۵۰۰ میلی‌لیتر آب جوش قرار گرفتند. درب ظرف محتوی نمونه ماهی کاملاً بسته شدند. مدت زما پخت ۳ دقیقه و ۳۰ ثانیه بود. بعد از سپری شدن زمان پخت، فیله‌ها روی پارچه جذب قرار گرفتند (Larsen *et al.*, 2010).

مایکروویو: نمونه‌های فیله ماهی در صفحه شیشه‌ای قرار گرفتند و دستگاه مایکروویو را روی قدرت ۱۰۰٪ (بالا) با موج ۲۴۵۰ MHz تنظیم و در مدت ۴۰ ثانیه نمونه‌ها پخته شدند. بعد از پخت، نمونه‌ها روی حوله جذب قرار داده شدند (Larsen *et al.*, 2010).

سرخ کردن تابه‌ای: فیله‌های ماهی را به تابه‌ای با دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل و بخش استخوانی فیله را به مدت ۳ دقیقه در تابه سرخ شدند و سپس از بخش پوست، فیله‌ها را به مدت ۳ دقیقه سرخ شدند (بدون اضافه کردن روغن) (Larsen *et al.*, 2010).

سرخ کردن عمیق: نمونه فیله ماهی را در سبد سیمی توری شکل قرار داده و سپس در ماهیتابه محتوی روغن ذرت با دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه غوطه‌ور شدند تا ماهی سرخ شد (Larsen *et al.*, 2010).

بعد از اتمام فرآیند پخت، نمونه‌ها در دمای اتاق خنک شدند. نمونه‌های خنک شده در کیسه‌های فریزری در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز قرار گرفتند. قبل از انجام آنالیزها، پوست و استخوان از فیله پخته شده جدا گردیدند. تمام نمونه‌ها در هر روش پخت با استفاده از همزن آشپزخانه همگن شدند.

تشکیل بوی خاص در محصولات سرخ‌کردنی می‌باشد. ترکیبات فوران (فوران^۱، ۲- فورفورال^۲، فورفوریل الکل^۳، ۲- پنتیل فوران^۴، ۵- هیدروکسی متیل فورفورال^۵) ناپایدار و منجر به ایجاد بوی مطلوب مطلوب و دلپذیر می‌گردند (Pérez- Palacios *et al.*, 2013). فوران می‌تواند از پیش‌سازهای متنوع طبیعی موجود در غذا مانند اسید آسکوربیک، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب و کاراتنوئیدها تشکیل شود (Pérez- Palacios *et al.*, 2013). همچنین از دیگر ترکیبات فرار (آلدهیدها، الکل‌ها، آلیفاتیک هیدروکربن‌ها، کتون‌ها، پیرازین‌ها، پیریدین‌ها، آروماتیک هیدروکربن‌ها، استرها) نقش مهمی در تولید بو و طعم در نمونه‌های سرخ شده دارند (Pérez- Palacios *et al.*, 2013).

هدف از این مطالعه، تحقیق بر روی تغییرات اسیدهای چرب آزاد، تیوباربیتوریک اسید، فلزات سنگین و خواص حسی ماهی‌ها با استفاده از روش‌های مختلف پخت (بخار پز، آب‌پز، مایکروویو، سرخ‌کردن تابه‌ای، سرخ‌کردن عمیق) بود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه

۳۶ قطعه ماهی‌های *Ctenopharyngodonidella* (مهر ماه سال ۹۳ بصورت تازه از مزرعه پرورش ماهیان گرمابی شهید احمدیان شهرستان خرمشهر خریداری شدند. ماهیان بلافاصله در جعبه‌های یونولیتی حاوی یخ (نسبت ماهی به یخ ۱ به ۲ (وزنی/ وزنی)) نگهداری و در مدت کمتر از ۲ ساعت به آزمایشگاه فرآوری واقع در دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردیدند. متوسط وزن و طول ماهی‌ها ۱۴۰۰ گرم و ۴۷/۳۳ سانتی‌متر بود. به محض ورود ماهیان‌ها به آزمایشگاه فرآوری، با آب سرد شسته و سرزنی و تخلیه امعا و احشا شدند. از هر ماهی دو فیله تهیه شد. ۱۰۰ گرم نمونه از بخش فوقانی^۶ خط جانبی فیله ماهی جهت پخت مورد استفاده قرار گرفت. این تحقیق شامل ۶ تیمار بود که از هر تیمار مورد آزمایش، ۳ تکرار در نظر گرفته شد. فاکتورهای کیفی چربی (تیوباربیتوریک اسید (TBA)^۷) و اسیدهای چرب آزاد (FFA)^۸) و ترکیب فلزات سنگین پس از پخت فیله ماهی‌ها انجام شدند. همچنین نمونه خام و پخته شده به منظور ارزیابی خواص حسی

- 1Furan
- 2 Furfural
- 3Furfuryl alcohol
- 4Pentylfuran
- 5Hydroxymethylfurfural (HMF)
- 6 Anatomical section
- 7Thiobarbitoric acid
- 8Free fatty acid

- 9 Poaching
- 10 Steaming

مجددا نمونه‌های خاکستر شده را در کوره به مدت یک تا دو ساعت در دمای کمتر از ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و دمای کوره به ازای هر یک ساعت، ۱۰۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد بالا برده شد تا دما به ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید. نمونه‌ها به مدت دو ساعت نیز در این دما نگهداری شدند. ۵ میلی‌لیتر HCl ۶ مولار را به بوتله چینی اضافه شد تا خاکسترها از دیواره بوتله چینی با اسید حل گردیده و نمونه‌ها روی هات پلیت قرار داده شدند تا اسید تبخیر شود. بمنظور هضم، نمونه‌ها به همراه ۳۰-۱۰ میلی‌لیتر HNO₃ ۰/۱ مولار حل گردید. پس از پوشاندن درب بوتله‌های چینی، نمونه‌ها به مدت ۲-۱ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها از کاغذ صافی عبور داده شدند و در ظروف پلاستیکی نگهداری گردیدند. در نهایت میزان فلزات سنگین (نیکل، کروم، کبالت، کادمیوم و سرب) موجود در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی شعله ای GBC SavantAA ساخت کشور استرالیا سنجش شدند. منحنی خطی کالیبراسیون اندازه‌گیری فلزات نیکل، کادمیوم در محدوده‌ی ۰/۱ تا ۴/۰ μg/l بود. برای فلزات کبالت، سرب و کروم منحنی کالیبراسیون از ۰/۴ تا ۴/۰ μg/l خطی بود (R²>۰/۹۹۸۰). حد تشخیص روش برای تمام فلزات در محدوده‌ی ۰/۰۳ تا ۰/۰۵ μg/l بدست آمد.

ارزیابی حسی

ارزیابی نمونه‌ها توسط ۱۰ نفر از دانشجویان نیمه آموزش دیده دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر در دامنه سنی ۲۳ تا ۲۸ سال انجام پذیرفت. ۱/۵ درصد نمک به نمونه‌های ماهی اضافه گردید و سپس از طریق روش‌های مختلف پخت، فیله ماهیان پخت شدند. بافت، طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌ها با مقیاس هدونیک^۳ (ASTM. 1969) (با اندکی تغییر) با اصطلاحات توصیفی ذیل رتبه‌بندی شدند: بافت (۵، سفتی^۴، قابلیت جویدن^۵ و خاصیت ارتجاعی^۶)، رنگ (۵، رنگ زرد طلایی روشن^۱، رنگ غیرشفاف^۲)، طعم (۵، مطلوب^۱، کاملاً نامطلوب^۲)، بو (۵، مطبوع^۱، کاملاً نامطبوع^۲)، پذیرش کلی (۵، خیلی خوب^۱، خیلی بد^۲) (قیومی جونیانی و همکاران، ۱۳۹۰).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با آزمون واریانس یک طرفه^۷ بررسی شده و نتایج بصورت میانگین ± خطای معیار بیان شد. جهت انجام مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵

اندازه‌گیری تیوباریتوریک اسید

این شاخص طبق روش Siripatrawan and Noipha (۲۰۱۲) افزودن ۹۷/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۴ نرمال به ۱۰ گرم نمونه ماهی هموژن شده اندازه‌گیری شد. ۵ میلی‌لیتر از مایع حاصل از تقطیر این مخلوط به ۵ میلی‌لیتر معرف تیوباریتوریک اسید افزوده و به مدت ۳۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه قرار داده شد. پس از سرد شدن میزان جذب مایع صورتی حاصل در طول موج ۵۳۸ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. عدد جذب خوانده شده در ثابت ۷/۸ ضرب شد تا میزان تیوباریتوریک اسید نمونه بدست آید (رابطه (۱)). میزان تیوباریتوریک اسید بصورت میلی‌گرم مالون آلدهید اکیوالان بر کیلوگرم نمونه بیان شد.

$$TBA_{\text{value}} = 8.7Abs_{538} \quad (1)$$

میزان جذب در طول موج ۵۳۸ نانومتر = Abs₅₃₈

اندازه‌گیری میزان اسیدهای چرب آزاد

میزان شاخص اسیدهای چرب آزاد با استخراج چربی از ۱۰ گرم نمونه گوشت با کمک کلروفرم/متانول به روش Woyewoda و همکاران (۱۹۸۶) و تیتراسیون گروه‌های کربوکسیلیک آزاد موجود در آن با هیدروکسید سدیم صورت پذیرفت. کلروفرم، متانول و ۲- پروپانول به نسبت ۲:۱:۲ به همراه معرف متاکروزول ارغوانی به عصاره استخراج شده اضافه شد و تیتراسیون تا تغییر رنگ از زرد به آبی ادامه یافت. این شاخص با قرار دادن در رابطه (۲) اندازه‌گیری شد. نتایج بصورت درصد اولئیک اسید^۱ بیان شد.

$$FFA = \frac{N \times (V_2 - V_1) \times 2.82}{W} \quad (2)$$

N = NaOH نرمالیت

V₂ = مصرفی برای هر نمونه NaOH میلی‌لیتر

V₁ = مصرفی برای نمونه شاهد (بلانک) NaOH میلی‌لیتر

W = وزن چربی (گرم)

اندازه‌گیری فلزات سنگین

سنجش فلزات سنگین (کبالت، نیکل، کروم، سرب و کادمیوم) طبق روش AOAC (۲۰۰۲) انجام گردید. ۱۵ گرم نمونه خشک شده را در هاون چینی پودر و در کوره با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شدند. به ازای هر یک ساعت، دمای کوره ۵۰ درجه سانتی‌گراد افزایش داده شد تا دمای کوره به ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد برسد. سپس نمونه‌ها به مدت ۸ ساعت در این دما نگهداری شدند. نمونه‌های خاکستر شده را با ۳-۱ میلی‌لیتر آب مقطر مرطوب کرده و جهت تبخیر شدن بر روی هات پلیت قرار گرفت و

1 Oleic acid

2 Blank

3 Hedonic

4 Firmness/ Toughness

5 Chewiness

6 Springiness

7 One- way ANOVA

با استفاده از نرم افزار آنالیز آماری 16SPSS استفاده گردید.

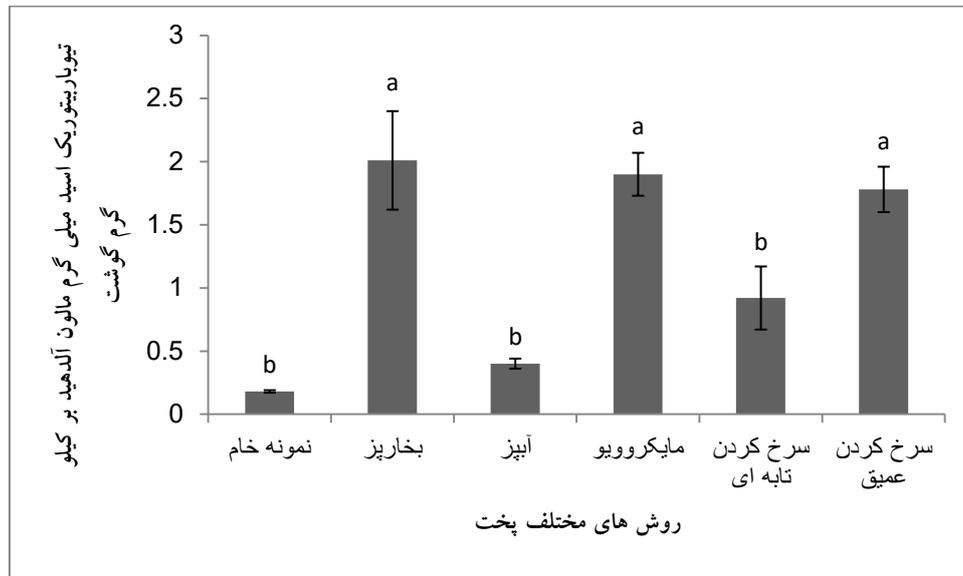
نتایج و بحث

تغییرات تیوباریتوریک اسید

تغییرات میزان تیوباریتوریک اسید ماهی‌آمور طی روش‌های مختلف پخت در شکل ۱ نشان داده شده است. میزان تیوباریتوریک اسید نمونه خام پس از پخت افزایش یافت که بیشترین میزان تیوباریتوریک اسید مربوط به روش‌های پخت بخارپز، مایکروویو و سرخ کردن عمیق بود که میزان تیوباریتوریک اسید به ترتیب ۲/۰۱، ۱/۹۰ و ۱/۷۸ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم گوشت بود. افزایش میزان تیوباریتوریک اسید در این روش‌های پخت ممکن است به دلیل بالا بودن نسبی دما در مقایسه با روش‌های آب‌پز و سرخ‌کردن تابه‌ای باشد. افزایش میزان تیوباریتوریک اسید در فیله‌های سرخ شده با روغن ممکن است به دلیل جذب روغن در این نمونه‌ها باشد. میزان تیوباریتوریک اسید روش‌های آب‌پز و سرخ‌کردن تابه‌ای با نمونه خام

تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$). در روش آب‌پز و سرخ‌کردن تابه‌ای، مالون آلدهید تولید شده طی اکسیداسیون چربی می‌تواند یا از طریق حل شدن در آب و یا در نتیجه اتصال با پروتئین‌ها کاهش یابد (Rodríguez *et al.*, 2008, Weber *et al.*, 2008).

مطالعه مشابهی در مورد تاثیر روش‌های مختلف پخت ماهی بر تغییرات تیوباریتوریک اسید توسط Weber و همکاران (۲۰۰۸) گزارش گردیده است و مشخص گردید که روش آب‌پز در مقایسه با سایر روش‌ها دارای کمترین میزان تیوباریتوریک اسید را داشتند. مقادیر بالای ۳-۴ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم، کیفیت پایین محصولات را نشان می‌دهد (Karacam *et al.*, 2002). در مطالعه انجام شده میزان تیوباریتوریک اسید در تمام نمونه‌های خام و پخته شده پایین‌تر از حد استاندارد بود. بنابراین همه نمونه‌ها جهت مصرف مناسب می‌باشند.



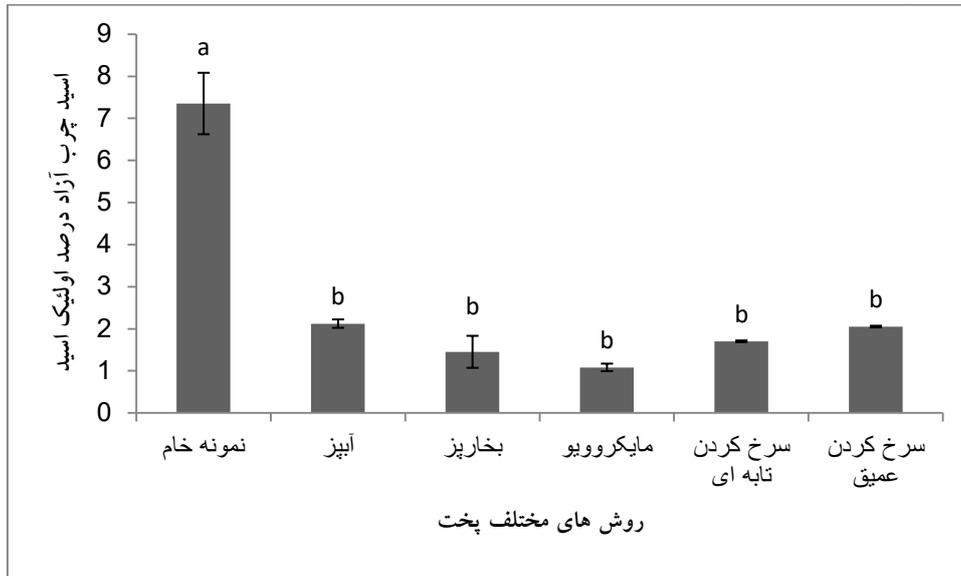
شکل ۱- تغییرات میزان تیوباریتوریک اسید ماهی‌آمور طی روش‌های مختلف پخت

افزایش در تولید اسید چرب آزاد در نمونه‌های خام مشاهده شد اما در نمونه‌های پخته شده میزان اسید چرب آزاد کمتر بود. حرارت بالا در نمونه‌های فیله پخته شده منجر به غیرفعال نمودن آنزیم لیپاز می‌گردد که منجر به کاهش میزان اسید چرب آزاد در نتیجه پخت می‌گردند (Weber *et al.*, 2008). همچنین خارج شدن اسید چرب فرار در طی پخت ممکن است منتهی به کاهش اسید چرب آزاد گردد (Weber *et al.*, 2008). مطالعه مشابهی در مورد تاثیر روش‌های مختلف پخت ماهی بر تغییرات تیوباریتوریک اسید توسط Weber و همکاران (۲۰۰۸) گزارش گردیده است و مشخص

تغییرات اسیدهای چرب آزاد

تغییرات میزان اسید چرب آزاد ماهی‌آمور طی روش‌های مختلف پخت در شکل ۲ نشان داده شده است. میزان اولیه شاخص اسید چرب آزاد در نمونه خام ۷/۳۵ درصد اولئیک اسید بود. میزان اسید چرب آزاد نمونه خام پس از حرارت دادن بطور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). میزان اسید چرب آزاد در روش‌های بخارپز، آب‌پز، مایکروویو، سرخ‌کردن تابه‌ای و سرخ‌کردن عمیق به ترتیب ۱/۴۵، ۲/۱۲، ۱/۰۸، ۱/۷۰ و ۲/۰۵ درصد اولئیک اسید بودند. بواسطه آبکافت فسفولیپیدها و تری‌گلیسریدها توسط لیپاز و فسفولیپاز (Rostamzad

گردید که تولید اسیدهای چرب آزاد در روش‌های مختلف حرارت در مقایسه با نمونه خام کاهش یافته است.



شکل ۲- تغییرات میزان اسید چرب آزاد ماهی آمور طی روش‌های مختلف پخت

مختلف زیر محدوده شناسایی بود. نتایج این مطالعه با نتایج Ersoy و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت داشت.

غلظت کادمیوم در نمونه‌های خام، آبپز، بخارپز، سرخ کردن تابه‌ای و سرخ کردن عمیق شناسایی نشد (زیر محدوده شناسایی). میانگین غلظت کادمیوم در فیله‌های پخته شده به روش مایکروویو $0.13 \mu\text{g/g}$ بود. در روش‌های مایکروویو، غلظت کادمیوم بطور معنی‌داری افزایش یافت اما علت بالا رفتن غلظت کادمیوم ناشناخته است. افزایش فلز ممکن است با تغییر غلظت رطوبت که در نتیجه پخت اتفاق می‌افتد، در ارتباط باشد (Ersoy et al., 2006).

غلظت سرب در نمونه‌های خام زیر محدوده شناسایی بود. غلظت سرب فیله‌های پخته شده طبق روش‌های مختلف، افزایش یافت. بیشترین میزان سرب مربوط به روش‌های سرخ کردن عمیق بود که با سایر روش‌های پخت بجز بخارپز کردن، تفاوت معنی‌داری نداشت. کاهش آب نمونه‌ها در طی پخت منجر به افزایش فلز سرب می‌گردد (Ersoy et al., 2006; Kalogeropoulos et al., 2012).

تغییرات فلزات سنگین

غلظت فلزات سنگین در نمونه‌های خام و پخته شده طبق روش‌های مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. غلظت نیکل در فیله خام ماهی آمور $0.07 \mu\text{g/g}$ بود. غلظت نیکل در روش بخارپز و مایکروویو با نمونه خام تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). غلظت نیکل در نمونه‌های آبپز، سرخ کردن تابه‌ای و عمیق زیر محدوده شناسایی بود.

غلظت کروم در نمونه‌های خام $0.21 \mu\text{g/g}$ تعیین شد. غلظت کروم در نمونه‌های خام و پخته شده تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$). میانگین غلظت کروم فیله‌ها در روش سرخ کردن عمیق دارای کمترین مقدار بود ($P > 0.05$). کاهش آب بافت منجر به افزایش غلظت یون‌ها می‌گردد. از طرف دیگر، پلی فنول‌های روغن‌های گیاهی با یون‌های فلزی در غذا ترکیب و بر روی توزیع یون‌ها بین روغن و غذا تأثیر می‌گذارد. بنابراین، غذاهای دریایی سرخ شده دارای کمترین میزان فلزات می‌باشند (Kalogeropoulos et al., 2012).

میانگین غلظت کبالت در فیله خام و پخته شده طبق روش‌های

جدول ۱- میانگین غلظت فلزات سنگین فیله‌های خام و پخته شده ماهی آمور ($\mu\text{g/g}$ ، وزن خشک)

سرب	کادمیوم	کبالت	کروم	نیکل	
ND	ND	ND	0.21 ± 0.21	0.07 ± 0.02	خام
0.09 ± 0.02^{bc}	ND	ND	0.64 ± 0.39	0.04 ± 0.02	بخارپز
0.12 ± 0.07^{abc}	ND	ND	0.31 ± 0.19	ND*	آبپز
0.24 ± 0.12^{abc}	ND	ND	0.21 ± 0.21	ND	سرخ کردن تابه‌ای
0.54 ± 0.09^a	ND	ND	0.02 ± 0.02	ND	سرخ کردن عمیق
0.45 ± 0.26^{ab}	0.13 ± 0.08	ND	0.17 ± 0.17	0.04 ± 0.04	مایکروویو

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P < 0.05$).

ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های خام و پخته شده در جدول ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود ویژگی بافت، بو، طعم، رنگ و پذیرش کلی در نمونه‌های سرخ شده عمیق دارای بیشترین امتیاز بودند که با نتایج قیومی جونیایی و همکاران (۱۳۹۰) مطابقت دارد. در مورد تمامی ویژگی‌های حسی اندازه‌گیری شده، نمونه‌های پخته شده بطور معنی‌دار بهتر از نمونه خام بودند. نمونه‌ها با امتیاز بالاتر از ۳ از مطلوبیت بالاتری برخوردار بودند. بررسی نتایج پذیرش کلی نمونه‌ها نشان داد که فیله سرخ شده عمیق دارای بیشترین امتیاز بود و بین نمونه‌های سرخ کردن تابه‌ای، آب‌پز و بخارپز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). همچنین بین نمونه خام و نمونه مایکروویو تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$).

پختن گوشت به ویژه سرخ کردن منجر به تولید رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها و تغییر طعم و بو می‌گردد (Santé- Lhoutellier et al., 2008 و Pérez- Palacios et al., 2013) که مطلوبیت خصوصیات حسی فیله ماهی پخته شده با توجه به نوع روش پخت متفاوت است. همچنین در نتیجه واکنش قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی، واکنش بین پروتئین‌ها و قندهای احیاء‌کننده گوشت انجام می‌گیرد و در نهایت منجر به تغییر طعم و رنگ فرآورده‌ها می‌گردد (Pérez- Palacios et al., 2013).

وقتی به بافت عضلانی حرارت داده می‌شود، الیاف آن محکم‌تر و بافت پیوندی سست‌تر می‌گردد. در نتیجه هنگام جویدن که نیرو به بافت پخته شده وارد می‌شود ابتدا ساختار بافت پیوندی تخریب می‌گردد (رضوی شیرازی، ۱۳۸۰).

جدول ۲- خصوصیات حسی ماهی‌های مورد طری روش‌های مختلف پخت

بافت	بو	طعم	رنگ	پذیرش کلی
خام	۱/۰۰±۰/۰۰ ^c	۱/۰۰±۰/۰۰ ^c	۱/۰۰±۰/۰۰ ^c	۱/۰۰±۰/۰۰ ^c
بخارپز	۲/۳۰±۰/۳۶ ^{bc}	۱/۸۰±۰/۲۴ ^{bc}	۲/۲۰±۰/۳۸ ^{bc}	۲/۲۰±۰/۲۹ ^b
آب‌پز	۲/۶۰±۰/۳۷ ^b	۱/۹۰±۰/۳۳ ^{bc}	۲/۲۰±۰/۳۸ ^{bc}	۲/۳۰±۰/۲۶ ^b
سرخ کردن تابه‌ای	۲/۷۰±۰/۳۹ ^b	۲/۴۰±۰/۳۳ ^b	۲/۸۰±۰/۲۹ ^b	۲/۷۰±۰/۲۶ ^b
سرخ کردن عمیق	۴/۰۰±۰/۲۹ ^a	۴/۰۰±۰/۴۳ ^a	۳/۹۰±۰/۳۱ ^a	۴/۱۰±۰/۳۳ ^a
مایکروویو	۱/۵۰±۰/۱۶ ^{cd}	۱/۶۰±۰/۲۲ ^{cd}	۱/۳۰±۰/۲۱ ^{cd}	۱/۳۰±۰/۱۵ ^c

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری

میزان تیوباربی‌توریک اسید در روش‌های بخارپز، سرخ کردن عمیق و مایکروویو افزایش یافت که نشان‌دهنده تغییرات اکسیداسیون است اما میزان تیوباربی‌توریک اسید در تمام روش‌ها پایین‌تر از حد مجاز بود. همچنین اسیدهای چرب آزاد در تمام روش‌ها بطور معنی‌داری کاهش یافت. میزان فلزات سنگین در روش مایکروویو در مقایسه با سایر

روش‌های پخت افزایش نشان داد. همچنین ارزیابی حسی نشان داد که روش سرخ کردن عمیق دارای بیشترین مطلوبیت بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که روش آب‌پز و سرخ کردن تابه‌ای از نظر تغییرات اکسیداسیون، میزان فلزات سنگین و ارزیابی حسی بهترین روش پخت می‌باشند.

منابع

- AOAC. 2002. Official Methods of Analysis, 13th edn. Washington DC, USA, 1094 pp.
- Aubourg, S. P. 1993. Interaction of malondialdehyde with biological molecules-new trends about reactivity and significance. *International journal of food science and technology*. 28: 323-335.
- Arias, M. T. G., Pontes, E. A., Fernandez, M. C. G., Muniz, F. J. S. 2003. Freezing/defrosting/frying of sardine fillets. Influence of slow and quick defrosting on protein quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83: 602-608.
- ASTM. 1969. Manual on sensory testing methods American society for testing and materials, 1916 Race Street, Philadelphia, pa. 19103, 34-42.
- Atta, M.B., El- Sebaie, L.A., Noaman, M.A., Kassab, H.E. 1997. The effect of cooking on the content of heavy metals in fish (*Tilapia nilotica*). *Food Chemistry*. 58: 1-4.
- Bakar, J., ZakipourRahimabadi, E., Che Man, Y.B. 2008. Lipid characteristics on cooked, chill- reheated fillets of Indo-

- Pacific king mackerel (*Scomberomorus guttatus*) *LWT- Food Science and Technology*. 41: 2144- 2150.
- Broncano, J.M., Petrón, M.J., Parra, V., Timón, M.L. 2009. Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of free cholesterol oxidation products (COPs) in Latissimusdorsi muscle of Iberian pigs. *Meat Science*. 83: 431- 437.
- EmamiKhansari, F., Ghazi- Khansari, M., Abdollahi, M. 2005. Heavy metals content of canned tuna fish. *Food Chemistry*. 93: 293- 296.
- Ersoy, B., Yanar, Y., Küçükgülmez, A., Çelik, M. 2006. Effects of four cooking methods on the heavy metal at concentrations of sea bass fillets (*Dicentrarchus labrax* Linn, 1785). *Food Chemistry*. 99: 748- 751.
- Ersoy, B., Özeren, A. 2009. The effects of cooking methods on mineral and vitamin contents of African catfish. *Food Chemistry*. 115: 419- 422.
- Ghauomi Jooyani, A., Khoshkhou, Zh., Motallebi, A. A. Moradi, Y. 2011. The effect of different methods of fatty acid composition of tilapia, *Oreochromis niloticus*, fillets. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 20: 97- 108.
- Gokoglu, N., Yerlikaya, P., Cengiz, E. 2004. Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral contents of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*. 84: 19- 22.
- Kalogeropoulos, N., Karavoltos, S., Sakellari, A., Avramidou, S., Dassenakis, M., Scoullou, M. 2012. Heavy metals in raw, fried and grilled Mediterranean finfish and shellfish. *Food and Chemical Toxicology*. 50: 3702- 3708.
- Karacam, H., Kutlu, S., and Kose, S. 2002. Effect of salt concentrations and shelf life of brined anchovies. *International Journal of Food Science and Technology*, 37: 19-28.
- Losada V. Barros-Velazquez, J. Aubourg, S. P. 2007. Rancidity development in frozen pelagic fish: Influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. *LWT*. 40: 991-999.
- Moradi, Y., Bakar, J., Motalebi, A.A., SeyedMohamad, S.H., Che Man, Y. 2011. A review on fish lipid composition and changes during cooking methods. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 20: 379- 390.
- Ozogul, Y., Ozogul, F., Gokbulut, C. 2006. Quality assessment of wild European eel (*Anguilla anguilla*) stored in ice. *Food chemistry*. 95: 458-465.
- Ozyurt, G., Kuley, E., Ozkutuk, S., and Ozogul, F. 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and gold band goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food chemistry*. 114: 505-510.
- Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M. E., & Robles-Burgueño, M. R. (2000). Postmortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0 °C. *Journal of Food Science*, 65, 40- 47.
- Pérez- Palacios, T., Petisca, C., Henriques, R., Ferreira, I.M.P.L.V.O. 2013. Impact of cooking and handling conditions on furanic compounds in bred fish products. *Food and Chemical Toxicology*. 55: 222- 228.
- Razai- Shirazi, H. Seafood Technology principles of handling and processing (1). 2007. Nghshemehr press. 325 pages.
- Rezaei, M., and Hosseini, S. F. 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *Journal of food science*. 73(6): H93-H96.
- Rodríguez, A., Carriles, N., Cruz, J.M., Abourg, S.P. 2008. Changes in the flesh of cooked farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5 °C). *LWT- Food Science and Technology*. 41: 1726- 1732.
- Rostamzad, H., Shabanpour, B., Shabani, A., and Shahiri, H. 2011. Enhancement of the storage quality of frozen Persian sturgeon fillets by using of ascorbic acid. *International food research journal*. 18: 109-116.
- Santé Lhtlier, V., Astuc, T., Marinova, P., Greve, E., Gatellier, P. 2008. Effect of meat cooking on physicochemical state and in vitro digestibility of myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 1488- 1494.
- Shahidi, F., and Zhong, Y. 2005. Lipid oxidation: measurement methods (6th Ed.). Memorial university of Newfoundland, Canada. 357-385.
- Siripatrawan, U., and Noipha, S. 2012. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. *Food hydrocolloids*. 27: 102-108.
- Tichivangan, J.Z., Morrissey, P.A. 1982. Lipid oxidation in cooked fish muscle. *Irish Journal of Food Science and Technology*. 6: 157- 163.
- Türkkan, A.U., Cakli, S., Kilinc, B. 2008. Effects of cooking methods on the proximate composition and fatty acid composition of seabass (*Dicentrarchus labrax* Linn, 1785). *Food and Bioproducts processing*. 86: 163- 166.
- Weber, J., Bochi, V.C., Ribeiro, C.P., Victório, A.M., E manuelli, T. 2008. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets. *Food Chemistry*. 106: 140- 146.
- Woyewoda, A. D., Shaw, S. J., Ke, P. J., and Burns, B. G. 1986. Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. *Canadian technical report of fish and aquatic science*, 1448p.

Effect of different cooking methods on changes of free fatty acids, thiobarbitoric acid, heavy metal (Ni, Cr, Co, Cd, Pb) and sensory properties of grass carp (*Ctenopharyngodonidella*)

S. Golgolipour¹, A. khodanazary^{*2}, K. Ghanemi³

Received: 2015.02.27

Accepted: 2015.07.28

Introduction: Grass carp (*Ctenopharyngodonidella*, family Cyprinidae) is one of the main fresh water fish species and highly demanded aquaculture species in Iran. Among the cultivated fish, grass carp, also called farmed white fish, has received great attention because of its similarity to Caspian white fish in Iran. The muscle of fish contains important levels of nutrients which are beneficial to health. Most research has been done and published on raw flesh. Cooking can lead to a loss of the nutritional value of foods. In this case the preservation of the maximum nutritive value can be ensured by using correct methods of cooking. The aim of this research was the influence of five cooking methods (poaching, boiling, microwave pan-frying and deep-frying) on changes of free fatty acids, thiobarbitoric acid, heavy metal (Ni, Cr, Co, Cd, Pb) and sensory properties of grass carp (*Ctenopharyngodonidella*) fillets was evaluated.

Materials and method: Grass carpsamples were purchased from a local market in Khorramshahr city, Khuzestan province, Iran. The fish were kept alive and transported to the laboratory. On arrival, samples were washed and eviscerated. The samples were filleted and cut into slices (100 g each). The fish samples were cooked using AOAC 976.16 procedure (method for cooking seafood). Five common cooking procedures were selected: poaching in stainless steel pot of boiling water for 30 min and 30 s, steaming in stainless steel steamer for 5 min and 30 s, microwaving in microwave for 40 s, pan-frying (without oil) in frying pan for 6 min at 180 °C and deep-frying in olive oil in a deep fryer for 5 min at 180 °C. After the cooking process, the samples were cooled to room temperature and the skin and backbone of the samples were removed. All fish in each lot were homogenized using a kitchen blender and analyzed to determine free fatty acid, thiobarbitoric acid, heavy metal and sensory properties. All sample homogenates were assayed in triplicate.

Results and discussion: The results indicated that the cooking methods of pouching, microwave and deep-frying increased thiobarbitoric acid (TBA), while cooking methods of boiling and pan-frying did not change TBA. The free fatty acid (FFA) content of the fillets was significantly reduced by the different cooking methods. The Ni in the cooking methods of boiling, pan-frying and deep-frying was not detected. The Cr in the cooking method of deep-fried samples was significantly decreased. The Co concentrations were below limits of detection in all samples. The Cd was only detected in microwave samples. The Pb content increased during cooking of fillets. The results of sensory properties were showed that the texture, odour, flavor, colour and overall likeness properties improve likeness score to some extent in deep-frying method and there were not significantly different between boiling, poaching and pan-frying.

Keywords: Grass carp, Cooking methods, TBA, FFA, Heavy metal, Sensory properties.

1. M.Sc student of Khorramshahr University of Marine Science and Technology.

2. Assistant professor, Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.

3. Assistant professor, Department of Marine Chemistry, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.

(*-Corresponding Author Email: khodanazary@yahoo.com)

ریزپوشانی روغن نعناع (*Menthaspicata*) با استفاد از نشاسته اصلاح شده

ستاره حسین زاده^۱، محمدحسین حداد خداپرست^۲، آرام بستان^{۳*}، محبت مجبی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۲۸

چکیده

روغن برگ گیاه نعناع یکی از انواع طعم‌دهنده‌های طبیعی و غیر محلول در آب بوده که به علت دارا بودن ویژگی‌های آروماتیک خاص از اهمیت ویژه‌ای در صنایع غذایی برخوردار است. در این پژوهش ریزپوشانی روغن نعناع با هدف سهولت در مصرف، افزایش حلالیت و محافظت در برابر عوامل محیطی، به روش خشک کردن پاششی مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور امولسیون شامل ۲/۵٪ روغن نعناع و نشاسته اصلاح شده به عنوان ماده دیواره به نسبت ۱۰٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ آماده، سپس در خشک کن پاششی با دمای 10 ± 18 درجه سانتی‌گراد خشک شد. ویژگی‌های امولسیون اولیه از جمله اندازه ذرات، ساختار، پایداری و ویژگی‌های ریزکپسول‌ها از جمله اندازه ذرات، توزیع اندازه ذره، رطوبت، حلالیت، ساختار، راندمان درون‌پوشانی و نیمه عمر مورد بررسی قرار گرفت. اندازه ذرات امولسیون بین ۱/۸ تا ۳/۳ میکرومتر بود و غلظت ماده دیواره تأثیر معنی‌داری بر اندازه ذرات داشت. تأثیر غلظت ماده دیواره بر پایداری امولسیون نیز معنی‌دار بود و با افزایش غلظت، پایداری در برابر خامه‌ای شدن افزایش یافت. اندازه کپسول‌های حاوی روغن نعناع بین ۱/۲ تا ۲/۵ میکرومتر بود. راندمان درون‌پوشانی با افزایش غلظت دیواره به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کرد. افزایش غلظت ماده دیواره و کاهش دما به شکل معنی‌داری سبب افزایش نیمه عمر ریزکپسول‌ها شد. کلیه ریزکپسول‌ها در آب به خوبی حل شده، محلولی شفاف ایجاد نمودند.

واژه‌های کلیدی: خشک کردن پاششی، نشاسته اصلاح شده، روغن نعناع، ریز پوشانی

مقدمه

روغن‌های معطر^۵ ترکیبات چربی‌دوست معطر و فرار استخراج شده از گیاهان هستند، که به عنوان طعم‌دهنده‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه اکثر ترکیبات آروماتیک در صنایع غذایی از طریق سنتز شیمیایی به دست می‌آیند و بسیاری از مصرف‌کنندگان به علت شک ناشی از مضر بودن آنها از مصرف غذاهای فرآوری شده آروماتیک پرهیز می‌نمایند. امروزه در جهان مواد آروماتیک طبیعی طرفداران زیادی داشته‌و در نتیجه تولید و تجارت آن به یک ضرورت تبدیل شده است. به علت وجود ترکیبات فرار در روغن‌های گیاهی، نیاز است با یک فرمول مناسب پوشش داده شوند تا از تبخیر و

تخریب ترکیبات فرار محافظت نموده و آنها را در زمان مناسب آزاد گرداند (Badee *et al.*, 2012; Teixeira *et al.*, 2004) ریزپوشانی^۶ روغن‌های معطر یکی از روش‌های افزایش پایداری، سهولت در انبارش و حمل و نقل مطمئن آنها است. از بین روش‌های ریزپوشانی، خشک کردن پاششی در بسیاری از موارد برای ریزپوشانی مواد معطر در صنایع غذایی ترجیح داده شده است. چراکه به علت اقتصادی بودن، سرعت عمل بالا، اطمینان بالا و قابلیت انعطاف‌پذیری زیاد، در صنعت به سهولت قابل اجرا می‌باشد (Agnihotri *et al.*, 2012; KashappaGoud *et al.*, 2005; Taylor, 1983). روغن برگ گیاه نعناع یکی از انواع روغن‌های معطر گیاهی است که در صنایع غذایی به علت عطر و طعم خاص کاربرد فراوان دارد. گیاه نعناع گونه (*Menthaspicata*) از رده دولپه‌ای‌های پیوسته گلبرگ و سردسته تیره نعناعیان^۷ است، که در اکثر نواحی ایران می‌روید. برگ‌ها بخش معطر و دارویی گیاه را تشکیل می‌دهد که دارای حداقل ۰/۷٪ (حجم/وزن) روغن معطر می‌باشد و دارای خاصیت ضد اسپاسم، ضدنفخ و ضد میکروبی بوده، در درمان ناراحتی‌های گوارشی و

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۲ و ۴- استادان گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۳- استادیار گروه نانوفناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد.

* - نویسنده مسئول: (Email: a.bostan@rifst.ac.ir)

5Essential Oil

6 Microencapsulation

7Lamiaceae

یون‌زدایی شده دوبار تقطیر استفاده شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از درجه خلوص آزمایشگاهی برخوردار بودند.

تهیه امولسیون روغن نعناع

نشاسته اصلاح شده به نسبت وزنی ۱۰٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ در امولسیون به آب یون‌زدایی شده اضافه گردید. فاز آبی برای انجام هیدراتاسیون کامل به مدت یک شب^۱ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. فاز آبی را به دمای محیط رسانده، روغن نعناع را به کلیه نمونه‌ها با نسبت وزنی ۲/۵٪ افزوده شد. سپس امولسیون فوق توسط همگن‌ساز اولتراتراکس (مدل T50، شرکت IKA، آلمان) با سرعت ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه همگن گردید. در این مرحله با استفاده از دستگاه مولد امواج فراصوت (مدل HD3200، شرکت BANDELIN، آلمان) با دامنه کنترل^۲ ۱۰۰ درصد و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز به مدت یک دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد همگن‌سازی نهایی انجام گردید. انتقال امواج فراصوت به امولسیون توسط سونوترود مدل TT13 به قطر ۱۳ میلی‌متر انجام شد (Badee et al., 2012; نجفی و کدخدایی، ۱۳۹۰؛ قهرمانی فر و همکاران، ۱۳۸۹؛ Baranauskiene et al., 2007).

تهیه ریزکپسول

امولسیون‌ها در خشک‌کن پاششی (مدل B190، شرکت BUCHI، کشور سوئیس) در دمای ورودی 10 ± 180 و دمای خروجی 10 ± 60 درجه سانتی‌گراد سرعت پمپ ۱۰ میلی‌لیتر بر دقیقه و سرعت جریان هوا ۲۰-۱۵٪ معادل ۶۰۰ لیتر بر ساعت و فشار ۴ بار خشک شدند. که تا زمان انجام آزمون در ظروف پلاستیکی درب‌دار در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (صادقیان و همکاران، ۱۳۹۲).

آزمون‌های امولسیون

اندازه‌گیری pH و بریکس

pH امولسیون‌ها مستقیماً با pH متر و بریکس آنها با رفراکتومتر (مدل RX-5000، شرکت ATAGO، ژاپن) تعیین گردید.

اندازه ذره امولسیون

اندازه ذرات امولسیون با دستگاه سنجش اندازه ذرات (مدل Analysette 22، شرکت Fritsch، آلمان) اندازه‌گیری شد (صادقیان و همکاران، ۱۳۹۲).

همچنین به‌عنوان آرام‌بخش استفاده می‌شود (کمیته تدوین فارماکوپه گیاهی ایران، ۱۳۸۱). روغن نعناع دارای مواد آروماتیک متنوعی است، که هر یک در ایجاد آرومای مطبوع روغن نعناع مؤثر می‌باشد. لیمون، منتول، کارون و دی‌هیدروکارون به‌عنوان ترکیبات اصلی و مؤثر روغن نعناع شناخته می‌شوند (آدامیک و کالمبا، ۲۰۰۴؛ باد و همکاران، ۲۰۱۲).

Kalemba و Adamiec (۲۰۰۴) در ریزپوشانی روغن نعناع فلفل‌یه روش خشک‌کردن پاششی دریافتند، راندمان این فرآیند تحت تأثیر مقادیر مختلف مواد اولیه متفاوت بوده، اما در کلیه نسبت‌های به‌کار رفته، روغن نعناع با راندمان بالایی حفظ گردیده‌است. Baranauskiene و همکاران (۲۰۰۷) روغن نعناع فلفلی را به کمک نشاسته اصلاح‌شده در نسبت‌های مختلف به روش خشک‌کردن پاششی ریزپوشانی نمودند و نتایج نشان داد نشاسته اصلاح‌شده می‌تواند به‌تنهایی به‌عنوان یک ماده دیواره استفاده شده، تا بیش از ۵۰٪ مواد معطر را حفظ نماید. Frascareli و همکاران (۲۰۱۲) روغن قهوه را توسط صمغ عربی به روش خشک‌کردن پاششی ریزپوشانی نمودند. در این تحقیق ریزپوشانی روغن قهوه با استفاده از صمغ عربی با کل مواد جامد ۳۰-۱۰٪ بررسی گردیده‌است. بهترین حالت ریزپوشانی با ۳۰٪ مواد جامد کل است. (نجفی و کدخدایی، ۱۳۹۰) تأثیر نوع و غلظت ماده دیواره بر ریزپوشانی لیمون را بررسی نمودند. به این منظور امولسیون روغن درآب حاوی ۱۰٪ لیمون بر حسب ماده خشک در محلول‌های آبی حاوی ۲، ۵ و ۱۰٪ کازئینات سدیم و نشاسته اصلاح‌شده با کمک امواج فراصوت تهیه شد و اثر نوع و غلظت ماده دیواره بر خصوصیات ریزکپسول‌های حاصل مورد سنجش قرار گرفت. در این پژوهش با هدف سهولت در مصرف، افزایش حلالیت و محافظت در برابر عوامل محیطی ریزپوشانی روغن نعناع با روش خشک‌کردن پاششی با ماده دیواره نشاسته اصلاح‌شده انجام شد، ویژگی‌های امولسیون اولیه بررسی و تأثیر غلظت‌های مختلف ماده دیواره بر میزان روغن سطحی، درصد روغن کپسول شده، راندمان ریزپوشانی، نیمه‌عمر و قابلیت حل شدن پودر حاصل در آب بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

روغن برگ نعناع به روش تقطیر با آب توسط کلونجر تهیه شد (Mohal khan et al., 2012). نشاسته اصلاح شده مناسب برای فرآیند خشک‌کردن پاششی (HiCap100) از کمپانی National Starch & Chemical Limited انگلستان تهیه شد. استاندارد منتول و دی‌لیمون با درصد خلوص به ترتیب ۹۸ و ۹۹ درصد از شرکت سیگما آلدریخ تهیه گردید. برای تهیه محلول‌ها از آب

1Over night

2Amplitude Control

$$\%OilRetention = \frac{TotalOil}{InitialOil} \quad (۵)$$

اندازه ذره

اندازه ذره میکروکپسول با دستگاه سنجش اندازه ذرات (مدل 22 Analysette، شرکت Fritsch، آلمان) مورد سنجش قرار گرفت.

تعیین میزان منتول و دی-لیمونن سطحی

تعیین میزان منتول و لیمونن سطحی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-160A شرکت SHIMADZU، ساخت ژاپن) انجام گردید. برای این منظور روغن موجود در سطح پودرها با حلال هگزان به ترتیب زیر استخراج گردید. ۱ گرم از پودر با ۲۰ میلی گرم هگزان (مناسب برای گاز کروماتوگرافی) در داخل لوله آزمایش درب پیچدار مخلوط گردید. سپس به مدت ۵ دقیقه با شیکر مخصوص لوله (مدل basic، شرکت IKA، آلمان) در دمای آزمایشگاه همزده شد. سپس ذرات پودر با کمک کاغذ صافی واتمن ۱ از حلال جدا گردید. محلول باقی مانده توسط بالن ژوژه ۲۵ میلی لیتر و با هگزان به حجم رسانیده شد. مقدار دی-لیمونن و منتول به ترتیب در طول موج‌های ۲۵۲ و ۲۰۷ نانومتر اندازه‌گیری گردید. منحنی استاندارد با استفاده از محلول‌های دارای غلظت‌های مختلف از دی-لیمونن و منتول در هگزان ترسیم گردید. از نمونه هگزان برای جلوگیری از خطای جذب در دستگاه استفاده گردید (Sootitawantawat *et al.*, 2003; Sibanda *et al.*, 2004).

تعیین میزان منتول و دی-لیمونن داخلی

برای تعیین میزان منتول و دی-لیمونن باقی مانده در ریزکپسول، از پودر حاصل از شستشو با هگزان که بر روی کاغذ صافی باقی مانده بود استفاده گردید. ۱ گرم از پودر به ۲۰ میلی لیتر آب دیونیزه داخل لوله درب پیچدار منتقل گردید و به مدت ۱ دقیقه با شیکر مخصوص لوله همزده شد. سپس به نمونه هگزان اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه داخل حمام آبی با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در طول این مدت همزدن بطور متناوب صورت گرفت. پس از طی شدن زمان فوق لوله‌ها در دمای آزمایشگاه سرد شده، سپس توسط سانتریفوژ (مدل Z36HK شرکت، HERMLE، آلمان) با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه جهت جداسازی فاز آبی از حلال سانتریفوژ شدند. در پایان جذب آن اندازه‌گیری گردید (Sootitawantawat *et al.*, 2003; Sibanda *et al.*, 2004).

راندمان ریزپوشانی

برای تعیین راندمان ریزپوشانی خارج قسمت مقدار دی-لیمونن یا منتول موجود در پودر به مقدار آنها در امولسیون اولیه بدست آمد (قهرمانی فر و همکاران، ۱۳۸۹؛ نجفی و کدخدایی، ۱۳۹۰)

عکس برداری میکروسکوپی

امولسیون آماده به کمک میکروسکوپ (مدل LX400 ساخت شرکت LABOMED آمریکا) مشاهده گردید، که ریزکپسول‌های تشکیل شده بخوبی قابل مشاهده بودند (صادقیان و همکاران، ۱۳۹۲).

آزمون خامه‌ای شدن

۱۵ میلی لیتر از امولسیون داخل شیشه مک‌کارتی ریخته شد و به مدت ۶ هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. در پایان هر هفته ارتفاع رویه تشکیل شده به ارتفاع کل امولسیون بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و محاسبه شد (Chanamai & McClements, 2001).

$$Creaming = \frac{Lengthofcream(mm)}{Totallengthofemulsion(mm)} \quad (۱)$$

آزمون‌های ریزکپسول

درصد رطوبت

از طریق وزن سنجی تحت خلأ انجام شد. ۱ گرم از پودر ریزپوشانی شده در آن با دمای ۱+۷۰ درجه سانتی‌گراد و خلأ ۱ بار به مدت ۶ ساعت به وزن ثابت رسید (AOAC, 1997).

$$\%Moisture\ Content = \frac{Wet(gr)}{Encapsuled\ Mass\ Powder(gr)} \times 100 \quad (۲)$$

درصد جرمی روغن تام

۱۰ گرم ریزکپسول را به مدت ۳ ساعت با استفاده از کلونجر تقطیر نموده، حاصل ضرب حجم روغن بدست آمده بر حسب میلی لیتر در دانسیته روغن نعناع که معادل ۰/۹۲۵۳ گرم/میلی لیتر می‌باشد محاسبه گردید، که معادل جرم روغن کل بر حسب گرم می‌باشد (AOAC, 1990).

$$\%TotalOilContent = (OilVolume \times OilDensity) \times 10 \quad (۳)$$

درصد جرمی روغن سطحی

۵ گرم ریز کپسول توسط ۲۰ میلی لیتر دی‌اتیل اتر شستشو گردید. حلال در ۲۵ درجه سانتی‌گراد توسط روتاری تیخیر گردید. میزان روغن سطحی از طریق اختلاط وزن محاسبه شد (Trubiano & Lacourse, 1988).

$$\%SurfaceOil = OilMass(gr) \times 20 \quad (۴)$$

درصد جرمی روغن کپسول شده

خارج قسمت روغن کل به روغن موجود در امولسیون است. روغن موجود در امولسیون بر حسب ماده خشک دیواره محاسبه می‌گردد (Frascareli *et al.*, 2012).

نتایج و بحث

$$EF = \frac{\text{MentholorLimoneneinMicrocapsul(ppm)}}{\text{MentholorLimoneneinEmulsion(ppm)}} \quad (۶)$$

بررسی خصوصیات امولسیون

تأثیر غلظت ماده دیواره بر اندازه ذره

تأثیر غلظت ماده دیواره بر اندازه ذرات امولسیون در جدول ۱ آمده است. نتایج نشان می‌دهد با افزایش غلظت ماده دیواره از ۱۰٪ به ۳۰٪ اندازه ذرات در امولسیون نشاسته اصلاح شده (MS) از ۳/۳ به ۱/۸ میکرومتر کاهش یافت. به عبارت دیگر افزایش غلظت ماده دیواره سبب کاهش اندازه قطرات امولسیون شده است. نتایج تجزیه واریانس تغییرات غلظت دیواره بر قطر متوسط ذرات معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بطوریکه با افزایش غلظت مواد دیواره و بریکس در امولسیون اندازه ذرات کوچکتر می‌شود، که علت آن تشکیل امولسیون پایدارتر در غلظت‌های بالاتر مواد دیواره می‌باشد. افزایش مواد امولسیون کننده سبب می‌شود با حداکثر توانایی، محافظت از قطرات در برابر تجمع و بهم چسبیدن را در طی فرآیند ریزپوشانی اعمال نماید (Jafari *et al.*, 2007). نجفی و کدخدایی (۱۳۹۰) به نتایج مشابهی دست یافتند. آنها در ریزپوشانی لیمون با کازئینات سدیم و نشاسته اصلاح شده به شکل جداگانه که هر کدام در سه سطح ۲، ۵ و ۱۰ درصد برای ریزپوشانی لیمون بکار رفتند در امولسیون ۱۰ درصد کازئینات سدیم و امولسیون ۱۰ درصد نشاسته اصلاح شده اندازه قطرات کوچکتری را گزارش نموده اند.

توزیع اندازه ذرات

تصویر ۱ منحنی توزیع اندازه ذرات امولسیون‌ها را نشان می‌دهد، که همگی تک قله‌ای هستند و نشان‌دهنده یکنواختی توزیع اندازه ذرات در تمامی نمونه‌هاست. اما کشیدگی آنها با یکدیگر تفاوت دارد. با افزایش غلظت مواد دیواره تمایل به کاهش اندازه ذرات افزایش یافته، دارای تغییرات کمتری هستند. بطوریکه امولسیون تهیه شده از دیواره با غلظت ۳۰ درصد دارای توزیع محدودتر، باریک‌تر و کشیده‌تر از جهت طولی است. هرچه پهنای منحنی کمتر باشد، دامنه تغییرات قطر ذرات امولسیون کمتر و نزدیکی اندازه آنها به یکدیگر بیشتر است. این ویژگی از شاخص‌های حائز اهمیت در تعیین پایداری امولسیون محسوب می‌شود (صادقیان و همکاران ۱۳۹۲). لذا امولسیون با غلظت ۳۰ درصد ماده دیواره دارای پایداری بیشتری از سایر امولسیون‌های تهیه شده می‌باشند. کدخدایی و نجفی (۱۳۹۰) در امولسیون لیمون تثبیت شده با کازئینات سدیم با افزایش ماده دیواره به ذرات امولسیون با اندازه قطر کوچکتر و منحنی توزیع اندازه ذرات باریک‌تر و تیزتر نسبت به امولسیون‌های با درصد مواد دیواره کمتر دست یافتند.

بررسی رهایش منتول و دی‌لیمون و تعیین نیمه عمر

رهایش منتول و دی‌لیمون در دماهای ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. برای ایجاد شرایط فوق نمونه‌ها در آن ۲۵ و انکوباتور ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. سپس به مدت ۶ هفته و هفته‌ای یک بار میزان منتول و دی‌لیمون سطحی و داخلی ریزکپسول‌ها اندازه‌گیری شد. سپس منحنی نیمه لگاریتمی درصد منتول و لیمون به شکل جداگانه در دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد بر حسب زمان نگهداری ترسیم گردید و با محاسبه شیب هر نمودار (k) زمان نیمه عمر ($t_{1/2}$) هر یک از نمونه‌ها محاسبه شد. لازم به یادآوری است که زمان نیمه‌عمر عبارت از زمان لازم برای کاهش ماده ریزپوشانی شده به میزان ۵۰ درصد اولیه می‌باشد که برای محاسبه آن از فرمول ذیل استفاده شد (Krishnan *et al.*, 2005) (قهرمانی فر و همکاران، ۱۳۸۹).

$$t_{1/2} = 0.693/K \quad (۷)$$

عکس برداری SEM با میکروسکوپ الکترونی روبشی

بمنظور مشاهده ساختار میکروسکوپی ریزکپسول‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی (مدل S360، شرکت OXFORD، انگلستان) استفاده شد.

بررسی حلالیت

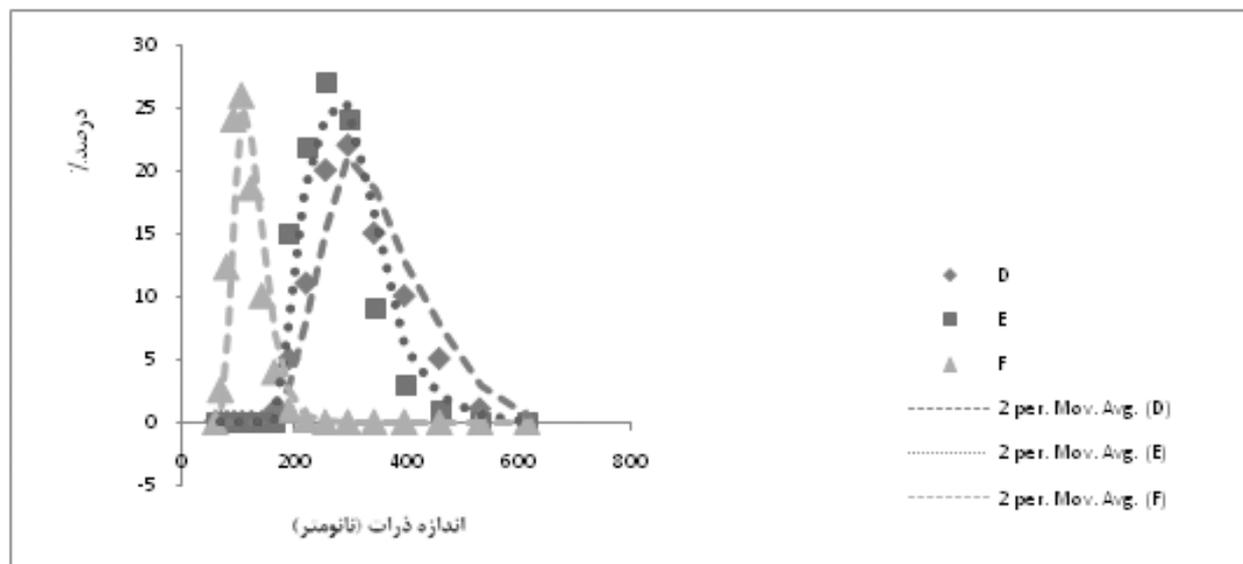
برای حلالیت ریزکپسول‌ها یک محلول ۰/۴ درصد وزنی / حجمی با آب مقطر تهیه شد. زمان انحلال کامل پودر از ۵ دقیقه نباید بیشتر باشد. سپس محلول‌ها از لحاظ تشکیل رسوب، رویه بستن، رنگ و شفافیت مورد بررسی قرار گرفت (Santos, 2003; Barbosa *et al.*, 2005).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های بدست آمده از آزمایشات فوق در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آزمایش فاکتوریل و با سه تکرار انجام شد. جهت تحلیل واریانس از نرم افزار Minitab 16 استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌ها در تیمارهای مورد بررسی از آزمون Bon froni در سطح ۹۵ درصد استفاده شد.

جدول ۱- تأثیر غلظت دیواره بر اندازه متوسط قطرات امولسیون

Z-Average(μm)	pH	بریکس امولسیون	غلظت ماده دیواره	ماده دیواره
$3/3120 \pm 0/214112$	$4/35 \pm 0/159478$	$14/59 \pm 0/81095$	%۱۰	
$2/1067 \pm 0/42191$	$4/26 \pm 0/304266$	$22/77 \pm 0/06083$	%۲۰	MS
$1/81233 \pm 0/070480$	$4/22 \pm 0/343333$	$35/89 \pm 1/77520$	%۳۰	



شکل ۱- منحنی توزیع اندازه قطرات امولسیون (D=۱۰٪، E=۲۰٪، F=۳۰٪ دیواره)

می‌توان به اثر ناشی از ایجاد اتصال بین قطرات در غلظت‌های پایین امولسیفایر نسبت داد. افزایش پایداری در اثر اضافه شدن مواد دیواره سبب افزایش گرانشی فاز آبی امولسیون گردیده، با توجه به قانون استوکس با افزایش گرانشی، حرکت قطرات به سمت بالا کند شده، سرعت رویه بستن امولسیون کاهش می‌یابد (Chanamai & McClements, 2001).

بررسی خصوصیات ریزکپسول اندازه ذرات ریزکپسول‌ها

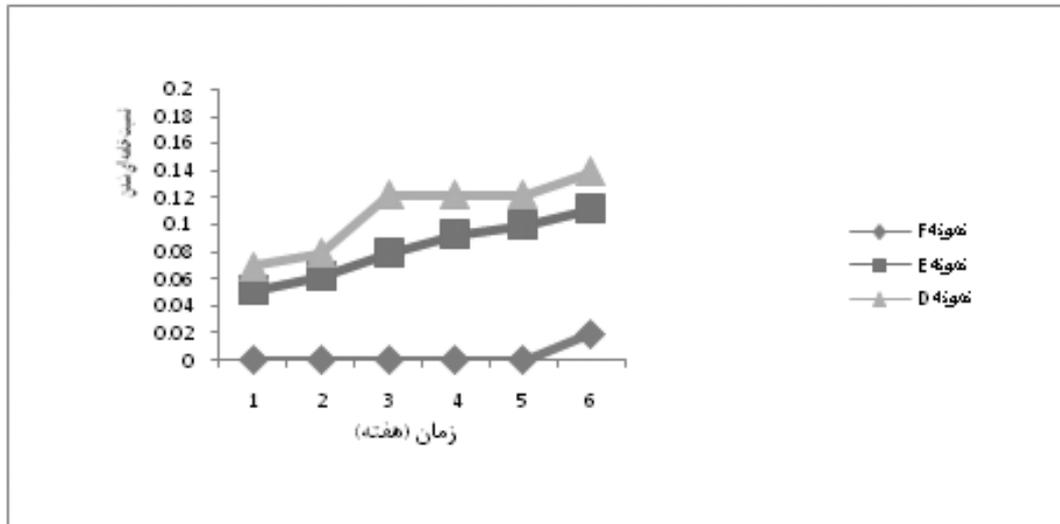
با ریزیوشانی روغن نعناع با غلظت‌های مختلف نشاسته اصلاح شده، ذرات کروی با سطح ناصاف حاصل شد (شکل ۶). توجه به جدول ۲ که در آن مقادیر اندازه ذرات ریزکپسول بر حسب درصد ماده دیواره قید شده است، می‌توان مشاهده نمود با افزایش غلظت دیواره از ۱۰ تا ۳۰ درصد اندازه ریزکپسول‌ها افزایش یافته است. با توجه به نتایج بدست آمده تاکنون می‌توان نتیجه گرفت، هرچه غلظت دیواره بیشتر شود امولسیون حاصل دارای اندازه ذرات کوچکتر و ریزکپسول حاصل اندازه ذره بزرگتری دارد. آنالیز واریانس اندازه ذرات ریزکپسول نشان می‌دهد، بین افزایش غلظت دیواره با افزایش اندازه ذرات ریزکپسول ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/05$).

قهرمانی‌فر و همکاران (۱۳۸۹) در بررسی اثر هموژنیزاسیون بر ویژگی‌های امولسیون تهیه شده با پروتئین آب پنیر، به این نتیجه رسیدند که با کاهش اندازه ذرات امولسیون ظرفیت اتصال آب به قسمت‌های هیدروفیل اسیدهای آمینه پروتئین‌های آب پنیر افزایش یافته، سبب افزایش یکنواختی کل سیستم می‌گردد. همچنین با توجه به شاخصی به نام بس‌پاشیدگی^۱ (PDI) که معیاری از یکنواختی ذرات امولسیون است، کاهش اندازه ذرات سبب بهبود ویژگی‌های امولسیون و کاهش شاخص بس‌پاشیدگی ذرات امولسیون گردیده است.

تأثیر غلظت ماده دیواره بر میزان خامه‌ای شدن

همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، امولسیون تهیه شده با ۳۰ درصد ماده دیواره تا ۵ هفته کاملاً یکنواخت باقی‌ماند و پس از آن شروع به دوفاز شدن و تشکیل لایه مرزی نمود. تجزیه واریانس روند خامه‌ای شدن امولسیون در طی ۶ هفته نشان داد، تأثیر غلظت دیواره بر پایداری در برابر خامه‌ای شدن معنی‌دار است ($P < 0/05$). با افزایش غلظت، پایداری در برابر خامه‌ای شدن افزایش یافت. عدم پایداری امولسیون‌ها در غلظت‌های پایین‌تر مواد دیواره را

1 Polydispersity Index (PDI)



شکل ۲- روند خامه‌ای شدن امولسیون‌ها (D=۱۰٪ دیواره، E=۲۰٪ دیواره، F=۳۰٪ دیواره)



شکل ۳- تصاویر میکروسکوپی امولسیون‌ها (D=۱۰٪ دیواره، E=۲۰٪ دیواره، F=۳۰٪ دیواره)

روغن سویا با کازئینات سدیم و مالتودکسترین نیز مشاهده گردید. به طوری که با افزایش غلظت ماده جامد از ۱۰ به ۴۰ درصد اندازه ذره پودر افزایش یافت. این تحقیق توسط اتمایزرهایی که قطر خروجی آنها با هم متفاوت بود تکرار گردید و در تمام موارد نتیجه فوق بدست آمد. Baranauskiene و همکاران (۲۰۰۷) در تولید میکروکپسول‌های نعنای فلفلی به ذراتی با دامنه اندازه ذرات ۱۱/۴ تا ۱۳۷/۶ میکرومتر دست یافتند و مشاهده کردند که نوع دیواره تأثیر معنی داری بر اندازه ذرات خواهد داشت.

تحلیل‌های آماری حاکی از آن است که افزایش غلظت ماده دیواره تا ۲۰ درصد بر افزایش اندازه ریزکپسول به یک میزان تأثیرگذار است، اما از ۲۰ تا ۳۰ درصد این افزایش متفاوت است. هرچه غلظت دیواره افزایش می‌یابد، اتمایزر ذرات را در اندازه بزرگتری خارج نموده، اندازه ریزکپسول نهایی بزرگتر می‌شود. (Frascareli *et al.*, 2012) مشاهده نمودند با افزایش غلظت ماده دیواره اندازه ذره پودر بزرگتر می‌شود و هرچه درصد روغن افزایش یابد اندازه ذره پودر کوچکتر می‌گردد. این نتیجه توسط Hogan و همکاران (۲۰۰۱) در ریزپوشانی

جدول ۲- تأثیر نوع و غلظت دیواره بر اندازه ذره ریزکپسول و راندمان ریزپوشانی

ماده دیواره	غلظت	Z-Average (μm)	راندمان ریزپوشانی بر حسب منتول %	راندمان ریزپوشانی بر حسب لیمونن %	میانگین راندمان ریزپوشانی %
	۱۰٪	^b ۱۱۳۲۶۶۷±۰/۱۳۹۳۲۴	^c ۵۲/۶۰	^c ۵۰/۷۰	^c ۵۱/۶۵
MS	۲۰٪	^b ۱۱۶۷۶۶۷±۰/۰۶۶۹۱۶	^b ۷۴/۵	^b ۷۳/۸۰	^b ۷۴/۱۵
	۳۰٪	^a ۳۵۵۰۰±۰/۳۶۱۴۳۲	^a ۹۱/۷	^a ۹۰/۶۰	^a ۹۱/۱۵

می‌دهد با افزایش درصد دیواره از ۱۰ به ۳۰ درصد راندمان ریزپوشانی افزایش یافت. آنالیز واریانس راندمان ریزپوشانی بر حسب منتول و لیمونن نشان می‌دهد، با افزایش غلظت دیواره این راندمان به شکل

راندمان ریزپوشانی

بررسی جدول ۲ که در آن راندمان ریزپوشانی بر حسب دو ماده از روغن نعنای شامل منتول و دی-لیمونن گزارش شده است، نشان

گزارش شده است. بطوریکه ملاحظه می‌گردد، کمترین رطوبت مربوط به پودر با ۳۰ درصد ماده دیواره و بیشترین رطوبت مربوط به پودر با ۱۰ درصد ماده دیواره است. با افزایش غلظت ماده دیواره از ۱۰ به ۳۰ درصد رطوبت در ریزکپسول تهیه شده از ۱/۷۳ به ۰/۸۹ کاهش یافت. به بیان دیگر بین درصد ماده دیواره و رطوبت ریزکپسول حاصل رابطه معکوس مشاهده می‌شود. آنالیز واریانس میزان رطوبت ریزکپسول‌ها نشان می‌دهد، بین افزایش غلظت ماده دیواره با کاهش میزان رطوبت ریزکپسول‌ها ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). افزایش غلظت دیواره سبب کاهش آب در دسترس جهت تبخیرگردیده، در نتیجه رطوبت در ریزکپسول کاهش می‌یابد. Frascareli و همکاران (۲۰۱۲) در ریزپوشانی روغن قهوه با صمغ عربی مشاهده نمودند، با افزایش ماده دیواره از ۲۰ درصد به بالا میزان رطوبت ریزکپسول کاهش می‌یابد همچنین Fernandes و همکاران (۲۰۰۸) در ریزپوشانی روغن گونه‌ای از گیاه به لیمو به نتیجه مشابهی دست یافتند.

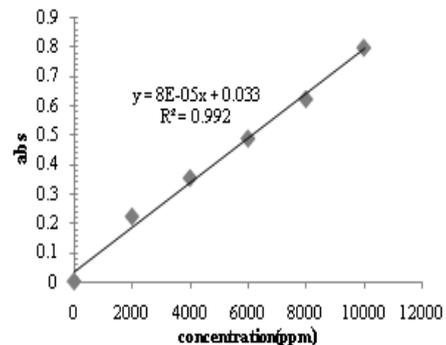
درصد جرمی روغن سطحی

روغن سطحی که پس از ریزپوشانی در سطح ریزکپسول باقی می‌ماند به راحتی اکسید شده، منجر به تولید ترکیبات نامطلوبی می‌گردد و مقدار آن در افزایش ماندگاری ریزکپسول اهمیت زیادی دارد. بطوری‌که هر چه مقدار روغن سطحی کمتر باشد ریزکپسول حاصل از کیفیت بالاتری برخوردار است. همان‌طور که نتایج مربوط به اندازه‌گیری روغن سطحی در جدول ۳ نشان می‌دهد با افزایش درصد ماده دیواره از ۱۰ به ۳۰ درصد مقدار روغن سطحی در ریزکپسول از ۰/۲۴ به ۰/۰۱ کاهش می‌یابد. پس با افزایش ماده دیواره، روغن سطحی روند کاهشی دارد. آنالیز واریانس روغن سطحی نشان می‌دهد، با افزایش غلظت ماده دیواره از ۱۰ به ۳۰ درصد میزان روغن سطحی به شکل معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش یافت.

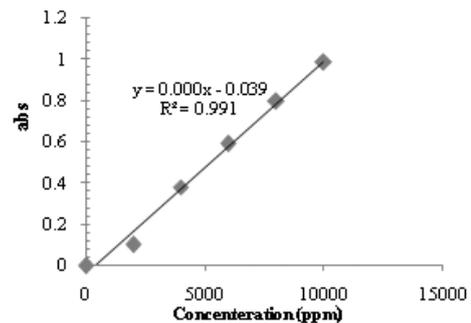
Sootitawat و همکاران (۲۰۰۵) در ریزپوشانی لیمون با مواد دیواره مختلف شامل صمغ عربی، مالتودکسترین، صمغ عربی و نشاسته اصلاح شده با خشک‌کن پاششی به نتایج مشابهی رسیدند. آنها بیان نمودند با کاهش اندازه ذرات امولسیون، روغن سطحی در بزرگتر شود به علت تخریب و شکسته شدن آسان‌تر آنها در اتمایزر روغن سطحی در ریزکپسول‌ها افزایش می‌یابد. قهرمانی فر و همکاران (۱۳۸۹) در ریزپوشانی لیمون با پروتئین آب‌پنیر به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت ماده دیواره از ۱۰ به ۳۰ درصد روغن سطحی از ۳/۸۵ به ۱/۶۱ درصد کاهش یافت، که علت این امر را ناشی از افزایش پایداری امولسیون و جلوگیری از خرد شدن ذرات و آزاد شدن ترکیبات فرار هسته در طول اتمیزاسیون توسط خشک‌کن پاششی عنوان نموده‌اند. Baranauskiene و همکاران (۲۰۰۷) درصد

معنی‌داری افزایش می‌یابد ($P < 0.05$). جهت تعیین راندمان ریزپوشانی برحسب متول و لیمون سطحی از منحنی استاندارد آن‌ها (منحنی ۴ و ۵) و معادله رگرسیونی مربوطه استفاده شد. با افزایش غلظت ماده دیواره انتشار روغن به سطح خشک دشوارتر انجام شده، راندمان ریزپوشانی افزایش می‌یابد. همچنین در امولسیون با ذرات بزرگتر، هنگام اسپری شدن توسط اتمایزر، ذرات خرد شده، مقداری از مواد هسته آزاد می‌گردد که سبب کاهش راندمان می‌شود، در حالیکه هر چه ذرات امولسیون کوچکتر باشد، در هنگام اتمیزه شدن بدون خرد شدن، خشک شده و میزان انتقال به سطح کاهش می‌یابد که سبب افزایش راندمان ریزپوشانی می‌گردد (Sootitawat *et al.*, 2003).

Frascareli و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده نمودند هر چه غلظت صمغ عربی افزایش یافت راندمان ریزپوشانی روغن قهوه زیادتر گردید. همچنین نتیجه گرفتند دو عامل اصلی در تعیین راندمان ریزپوشانی اندازه قطرات امولسیون و غلظت مواد دیواره‌است. نتایج مشابهی توسط Ahn و همکاران (۲۰۰۸) بدست آمد. آنها در ریزپوشانی روغن آفتابگردان با پروتئین ایزوله شده شیر و دکسترین دریافتند افزایش غلظت مواد دیواره سبب افزایش ویسکوزیته گردیده، راندمان ریزپوشانی افزایش یافت.



شکل ۴- منحنی استاندارد جذب بر حسب غلظت متول



شکل ۵. منحنی استاندارد جذب بر حسب غلظت لیمون

رطوبت

در جدول ۳ نتایج مربوط به اندازه‌گیری رطوبت ریزکپسول‌ها

روغن سطحی در ریزپوشانی روغن نعناع فلفلی را بین ۰/۱ تا ۰/۳ درصد گزارش کردند.
جدول ۳- تأثیر نوع و غلظت دیواره بر رطوبت، روغن سطحی و روغن کپسول شده

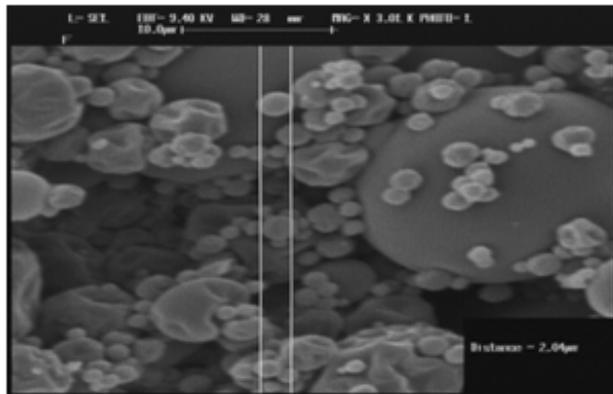
ماده دیواره	غلظت	رطوبت %	روغن تام %	روغن سطحی %	روغن کپسول شده %
	٪۱۰	^a ۱/۷۳۰۰۰±۰/۰۶۹۲۸۲	۱۴/۷۱۳۳±۱/۱۸۴۲۹	^a ۰/۲۴۰۰۰±۰/۰۲۰۰۰۰	^c ۵۸/۸۵۳۴±۴/۳۷۶۹۴
MS	٪۲۰	^b ۱/۲۹۶۶۷±۰/۰۸۸۳۸۰	۹/۸۸۷۷±۰/۱۲۱۲۷	^b ۰/۱۰۶۶۶۷±۰/۰۰۶۶۶۷	^b ۷۹/۱۰۰±۰/۹۷۰۱۵
	٪۳۰	^c ۰/۸۹۰۰۰±۰/۰۸۰۲۰۸	۷/۸۹۰۰±۰/۲۲۸۵۵	^c ۰/۰۱۰۰۰±۰/۰۰۰۰۰۰	^a ۹۴/۷۱۰۰±۲/۷۴۲۵۵

درصد جرمی روغن کپسول شده

نتایج اندازه‌گیری درصد جرمی روغن کپسول شده که در جدول ۳ بیان گردیده، نشان می‌دهد با افزایش غلظت ماده دیواره از ۱۰ به ۳۰ درصد، میزان روغن کپسول شده افزایش یافت و این افزایش از ۵۸/۸۵ تا ۹۴/۷۱ درصد بود. نتایج فوق را می‌توان به خواص امولسیون نسبت داد. هرچه در امولسیون غلظت مواد دیواره بالاتر باشد، به زمان کوتاه‌تری برای تشکیل پوسته نیاز دارد، در نتیجه حرکات چرخشی قطرات کاهش یافته و به حفظ بیشتر آنها کمک می‌کند (Jafari et al., 2008). آنالیز واریانس روغن کپسول شده در ریز کپسول‌ها نشان می‌دهد، که بین میزان روغن کپسول شده، با غلظت و نوع دیواره رابطه معنی‌داری برقرار است ($P < 0/05$). هرچه غلظت دیواره کمتر باشد، تولید امولسیون با ذرات بزرگ‌تر نموده، در زمان خشک شدن مقدار روغن سطحی افزایش می‌یابد. در این شرایط میزان تبخیر روغن از سطح افزایش یافته، از مقدار روغن کل کسر می‌گردد و میزان روغن کپسول شده کاهش می‌یابد. Frascireli و

همکاران (۲۰۱۲) در ریزپوشانی روغن قهوه با صمغ عربی به نتایج مشابهی رسیدند. آنها دریافتند که بیشترین مقدار روغن کپسول شده مربوط به بیشترین غلظت ماده دیواره (۳۰ درصد) است و کمترین روغن کپسول شده مربوط به کمترین غلظت از مواد دیواره (۱۰ درصد) می‌باشد. Bhandari و همکاران (۱۹۹۲) در ریز پوشانی روغن سویا با صمغ عربی به همین نتایج دست یافتند. آنها مشاهده نمودند که با افزایش مواد دیواره از ۱۰ به ۳۰ درصد میزان روغن کپسول شده افزایش یافت.

از سوی دیگر تصور می‌شود ابعاد مولکولی بیوپلیمرهای مورد استفاده به‌عنوان ماده دیواره نقش مهمی در از دست رفتن روغن نعناع داشته باشند. زیرا بطور مستقیم بر انتشار مولکولی ترکیبات به داخل پوسته اطراف ریز کپسول‌ها و جابجایی آنها به سطح تأثیر می‌گذارند (Soottitantawat et al., 2003).



شکل ۶- تصاویر بدست آمده از میکروسکوپ الکترونی.

رهایش و نیمه عمر

رهایش منتول و دی-لیمونن که از مواد مؤثره روغن نعناع می‌باشند، در دماهای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد طی ۶ هفته (۴۲ روز) بررسی شد. روند کاهش هریک از این ترکیبات در دماهای مذکور بر حسب زمان در شکل‌های ۷ تا ۱۰ آمده است. چنانچه ملاحظه می‌شود کلیه منحنی‌ها خطی و نزولی هستند، که بیانگر پیروی میزان افت منتول و دی‌لیمونن از مکانیزم واکنش درجه اول با ضریب تبیین از ۰/۹۴ می‌باشد. همواره مقدار عددی ضریب تبیین

بین ۰ و ۱ می‌باشد. اما برای آنکه مدلی از اعتبار و دقت لازم برخوردار باشد، لازم است ضریب تبیین آن از ۰/۸ بزرگتر باشد (نجفی و کدخدایی، ۱۳۹۰). لذا با توجه به ضرایب بدست آمده برای خطوط برازش شده بر داده‌های آزمایش می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که مدل خطی استفاده شده برای نشان دادن روند کاهش منتول و دی-لیمونن از ریز کپسول‌ها مناسب است. بر اساس مکانیزم واکنش درجه اول، نیمه عمر منتول و دی-لیمونن با توجه به ثابت (شیب) معادلات رگرسیونی بدست آمده از هر منحنی محاسبه

(۲۰۰۵) به نتایج مشابهی دست یافتند. آنها در ریزپوشانی لیمون با نشاسته اصلاح شده و مالتودکسترین: صمغ عربی ملاحظه نمودند که میزان رهایش در ریزکپسول‌های کوچکتر که حاوی درصد کمتری از مواد دیواره هستند، بیش از ریزکپسول‌های بزرگتر بوده که حاوی مواد دیواره بیشتری هستند که با نتایج به دست آمده از این تحقیق نیز هماهنگی دارد.

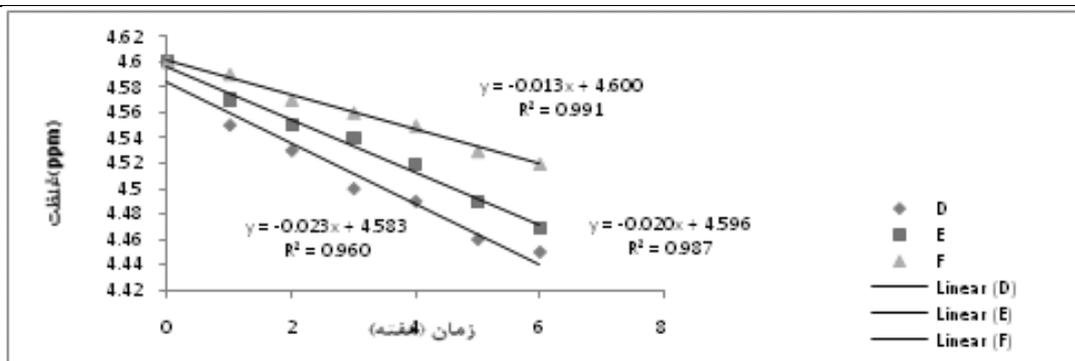
بررسی حالیت

روغن نعناع در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد آزمایشگاه در آب به‌عنوان حلال حل نشد، در حالیکه کلیه نمونه‌های مربوط به روغن نعناع ریزپوشانی شده در مدت ۱/۵ دقیقه بطور کامل در آب حل گردیده، کاملاً شفاف و فاقد هرگونه رسوبی بود.

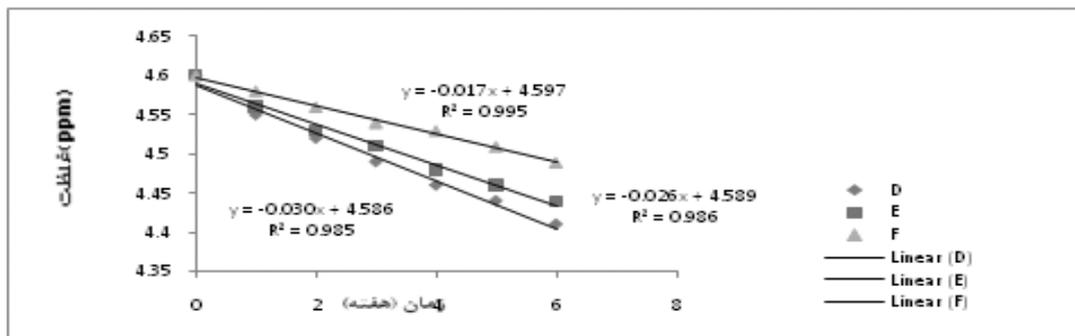
می‌گردد (جدول ۴). داده‌ها نشان می‌دهد میزان از دست رفتن منتول و دی-لیمون به‌صورت قابل ملاحظه‌ای به غلظت مواد دیواره بستگی دارد. همچنین استفاده از غلظت‌های بالاتر مواد دیواره، موجب ابقای بیشتر مواد موثره و کاهش روند خروج آنها از ریزکپسول شده است. به‌طوری‌که میانگین نیمه‌عمر ریزکپسول با ۳۰٪ ماده دیواره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به اندازه ۴۲ روز بیش از ریزکپسول نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. بنابراین کاهش دما از ۲۵ به ۴ درجه سانتی‌گراد ۴۲ روز بر ماندگاری ریزکپسول می‌افزاید. افزایش زمان نیمه‌عمر ریزکپسول با افزایش غلظت ماده دیواره بدین سبب است که، همزمان با افزایش غلظت دیواره اندازه ریزکپسول‌ها افزایش یافته، میزان سطح به حجم در آنها کاهش می‌یابد. بنابراین میزان آزادسازی ترکیبات هسته با بزرگتر شدن اندازه ذرات پودر کاهش می‌یابد. Sootitawat و همکاران

جدول ۴- تأثیر غلظت ماده دیواره بر ماندگاری ریزکپسول‌ها در ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد

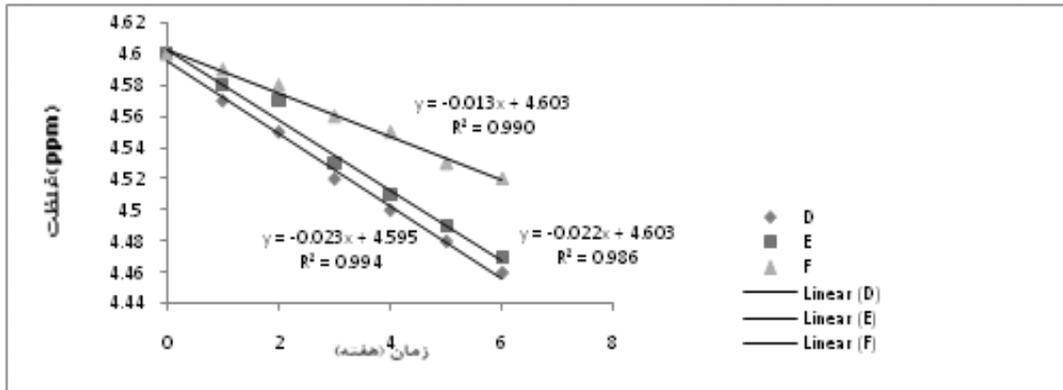
ماده دیواره	غلظت	نیمه عمر بر حسب منتول در دمای ۲۵°C (روز)	نیمه عمر بر حسب لیمون در دمای ۴°C (روز)	نیمه عمر بر حسب لیمون در دمای ۲۵°C (روز)	نیمه عمر بر حسب لیمون در دمای ۲۵°C (روز)
MS	۱۰٪	۱۰۳/۵	۱۰۰/۵	۸۱	۷۹/۵
	۲۰٪	۱۰۷/۷	۱۱۷	۹۳	۹۱/۵
	۳۰٪	۱۷۴	۱۷۷	۱۳۲	۱۳۵



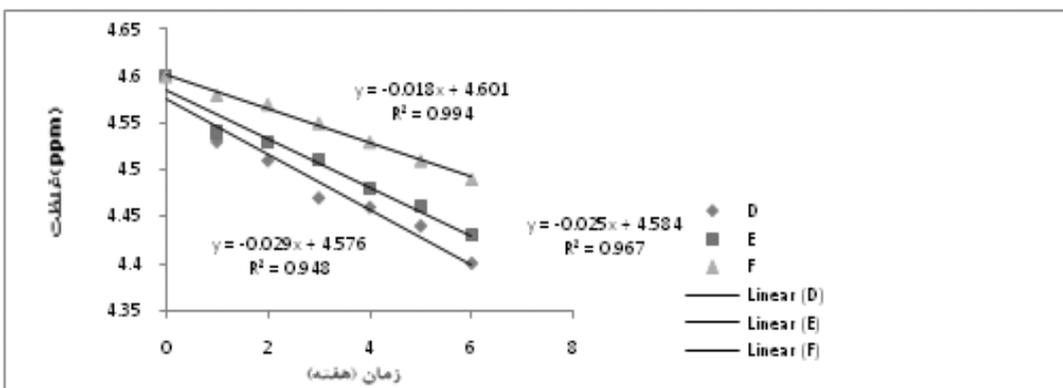
شکل ۷- منحنی رهایش دی-لیمون در ۴ درجه سانتی‌گراد (D=۱٪، E=۲۰٪، F=۳۰٪ دیواره)



شکل ۸- منحنی رهایش دی-لیمون در ۲۵ درجه سانتی‌گراد (D=۱٪، E=۲۰٪، F=۳۰٪ دیواره)



شکل ۹- منحنی رهايش منتول در ۴ درجه سانتی‌گراد (D=۱۰٪، E=۲۰٪، F=۳۰٪ دیواره)



شکل ۱۰- منحنی رهايش منتول در ۲۵ درجه سانتی‌گراد (D=۱۰٪، E=۲۰٪، F=۳۰٪ دیواره)

پایداری و ریزکپسول با روغن سطحی کمتر، راندمان ریزپوشانی بالاتر و نیمه‌عمر بیشتر بدست آمد. همچنین دما نیز نقش مهمی در محافظت از ترکیبات فرار داشت، به‌طوری‌که ریزکپسول‌های نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد میانگین نیمه‌عمرشان ۴۲ روز بیش از نمونه‌های نگهداری شده در ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود.

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد، در ریزپوشانی روغن نعناع به میزان ثابت ۲/۵ درصد، غلظت ماده دیواره بر پایداری امولسیون، راندمان ریزپوشانی و باقی ماندن منتول و دی-لیمون در ریزکپسول در زمان خشک‌کردن و در دوره نگهداری مؤثر بودند. به‌طوری‌که با افزایش غلظت ماده دیواره از ۱۰ تا ۳۰ درصد، امولسیون

منابع

- صادقیان، ع. ۱۳۹۲. بررسی تأثیر برهم کنش‌های بین مولکولی بر ویژگی‌های امولسیون و ریزکپسول روغن هل. پایان نامه دوره دکتری، دانشگاه فردوسی مشهد.
- قهرمانی‌فر، ا.، محمدی‌ثانی، ع.، نجفی، م.، قهرمانی‌فر، م. ۱۳۸۹. تأثیر ویژگی‌های امولسیون بر خصوصیات پودرهای حاصل از فرآیند ریزپوشانی. مجله علمی و پژوهشی علوم و فناوری غذایی، ۲(۲): ۴۵-۵۴.
- قهرمانی‌فر، ا.، محمدی‌ثانی، ع.، نجفی، م.، محمدی‌مقدم، ت. ۱۳۸۹. بررسی تأثیر پارامترهای زمان هموژنیزاسیون و غلظت بر ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی پروتئین آب پنیر تغلیظ شده. مجله علمی و پژوهشی علوم و فناوری غذایی، ۲(۲): ۳۵-۴۳.
- نجفی، م.، کدخدایی، ر. ۱۳۹۰. ریزپوشانی لیمون به روش خشک‌کردن انجمادی. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۷(۳): ۲۱۰-۲۱۷.

کمیته تدوین فارماکوپه گیاهی ایران. ۱۳۸۱. فارماکوپه گیاهی ایران. چاپ اول. تهران. وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی.

Adamiec, J., Kalemba, D. 2004. Microencapsulation of peppermint oil during spray-drying. International Drying Symposium, B (4): 1510-1517.

- Agnihotri, N., Ravinesh, M., Chirag, G., Manu, A. 2012. Microencapsulation – A Novel Approach in Drug Delivery. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2 (1): 1-20.
- Ahn, J., Kim, Y., Lee, Y., Seo, E., Lee, K., Kim, H. 2008. Optimization of microencapsulation of seed oil by responsesurface methodology. *Food chemistry*, 107 (1): 98–105.
- AOAC, 1997. Official Methods of Analysis, 16th ed. 3rd rev. Association of Official Analytical
- AOAC, 1990. Volatile oil in spices. In Official Methods of Analysis, 15th ed. Helrich, K., Ed.; Arlington, VA, 1001.
- Badee, A., Amal, E., El- Kader, A., and Hanan, M. Aly. 2012. Microencapsulation Of Peppermint Oil By Spray Drying. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(12): 499-504.
- Baranauskiene, R., Bylaite, E., Zukauskaitė, J., and Venskutonis, P. 2007. Flavour Retention of Peppermint Essential Oil Spray-Dried in Modified Starches during Encapsulation and Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (8): 3027-3036.
- Barbosa, M., Borsarelli, C., & Mercadante, A. 2005. Light Stability of Spray-Dried Bixin Encapsulated with Different Edible Polysaccharide Preparations. *Food Research International*, 38: 989-994.
- Bhandari, B., Dumoulin, E., Richard, H., Noleau, I., Lebert, A. 1992. Flavor encapsulation by spray drying – application to citral and linalyl acetate. *Journal of Food Science*, 57 (1): 217–221.
- Chanamai, R., & McClements, D. 2001. Depletion Flocculation of Beverage Emulsions by Gum Arabic and Modified Starch. *Journal of Food Science*, 66 (3): 457-463.
- Fernandes, L., Turatti, I., Lopes, N., Ferreira, J., Candido, R., Oliveira, W., 2008. Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of *Lippiasidoide*s essential oil. *Drying Technology*. 26 (12): 1534–1542.
- Frascareli, E., Silvaa, V., Tonona, R., Hubingera, M. 2012. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioproducts Processing*, 90: 413-424.
- Hogan, S., McNamee, B., O’Riordan, E., O’Sullivan, M. 2001. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 11 (3): 137–144.
- Jafari, S.M., He, T., Bhandari, B. 2007. Encapsulation of nanoparticles of D-limonene by spray drying: Role of emulsifiers and emulsifying techniques. *Drying Technology*, 25: 1079–1089.
- Jafari, S.M., Assadpoor, E., He, Y., Bhandari, B., 2008. Encapsulation efficiency of food flavors and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26 (7): 816–835.
- Kashappa Goud, H., Desai and Hyun, J. 2005. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23 (1): 1361-1394.
- Krishnan, S. Kshirsagar, A. Singhal, R. 2005. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. Food and Fermentation Technology Department, Institute of chemical Technology, University of Mumbai. *Carbohydrate Polymers*, 62 (4): 309–315.
- Mohal Khan, A., Khatun, S., Hossain, M., and Rahman, M. 2012. Characterization Of The Eucalyptus (E.Globulus) Leaves Oil. *Journal of Bangladesh Chemical Society*, 25 (2): 97-100.
- Santos, A. 2003. Encapsulation of oleoresin of paprika by gum arabic and agglomeration processes with amino/gelatin: stabilization and application Ph.D. Thesis, 1–171.
- Sibanda, W., Pillay, V., Danckwerts, M., Viljoen, A., van Vuuren, S. & Khan, R. 2004. Experimental design for the formulation and optimization of novel Cross-linked liposomes developed for in vitro site-specific release of menthapiperita oil. *AAPS Pharm Science Technology*, 5 (1): 1-14.
- Soottitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., & Linko, P. 2003. Microencapsulation by spray drying: Influence of emulsion size on the retention of volatile Compounds. *Journal of Food Science*, 68: 2256– 2262.
- Soottitantawat, A., Bigeard, F., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., Linko, P. 2005. Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated d-limonene by spray drying. *Innovative Food Science of Emerging Technolog*, 6 (1): 107–114.
- Taylor, A. 1983. Encapsulation systems and their applications in the flavor industry. *Food Flavor Ingredients Packaging and Processing*. 5 (9), 48–51.
- Teixeira, M., Andrade, L., Farina, M., & Rocha-Leao, M. 2004. Characterization of short Chain fatty acid microcapsules produced by spray drying. *Materials Science and Engineering*, 24: 653-658.
- Trubiano, P., & Lacourse, N. 1988. Emulsion-stabilizing starches. *flavour encapsulation*, 370: 45-54.

Microencapsulation of Spearmint (*Mentha Spicata*) Oil By Modified Starch

S. Hosseinzadeh¹, A.Bostan^{2*}, M. H. Hddad Khodaparast³, M. Mohebbi⁴

Received: 2015.12.07

Accepted: 2016.04.16

Introduction: Flavors play an important role in consumer satisfaction and influence further consumption of foods. Most available aroma compounds are produced via chemical synthesis or extraction. Foodstuffs containing synthetic flavor in many cases are avoided, because the consumers suspect that these compounds are toxic or harmful to their health. Recently, the market of flavors is focused in using aromatic materials arriving from natural sources to replace the use of synthetic flavors gradually (Badee, *et al.*, 2012).

Flavors are indispensable ingredients of food preparations, and usually they are in liquid form that makes their handling and incorporating into food more difficult. Furthermore, many flavor components exhibit considerable sensitivity to oxygen, light, and heat. In response to these difficulties, dried flavors have been developed.

The objective of this work was to study the influence of different wall material concentration on the emulsion and spray dried flavor powder characteristics.

Materials&methods: Spearmint oil was obtained by clevenger distillation method and modified starch was obtained from National Starch&Chemical Limited company (England).

Different concentration of modified starch solutions (10, 20 & 30% w/w) were prepared by dispersing the solids in deionized water and heating at 40 °C over a steam bath to facilitate solubilization. These solutions were allowed to cool to room temperature before storing at 4°C overnight. The spearmint oil (2.5 % w/w) was added to the solution and was homogenized vigorously (15000 rpm for 10 min.) with an Ultra Turrax homogenizer (T25, IKA, Germany) at ambient temperature. The emulsions were then further emulsified using Ultrasounds (20kHz, 1 min) (Jafari, *et al.*, 2007).

The obtained emulsion was spray dried in a BUCHI 190 Spray Dryer (Swiss) with an evaporation rate of 600 lit/1 hour, equipped with a pressurized nozzle operating at 4bar pressure. Feed is metered into the dryer by a peristaltic pump. Powder was collected at the bottom of dryer cyclone and kept in air tight containers at -18°C until analyzed.

The particle size of emulsion droplets and spray dried powder were determined using dynamic laser light scattering (Analysette22, Fritsch company, Germany).

Encapsulation Efficiency was defined as the percentage of Menthol and d-limonene that were entrapped inside the microcapsules to the total loaded to the emulsion. The equations were as follows:

$$\text{Encapsulation Efficiency} = \frac{\text{Menthol or Limonene in Microcapsul (ppm)}}{\text{Menthol or Limonene in Emulsion (ppm)}} \times 100\%$$

The powders were attached to SEM stubs using double adhesive tape, coated with 3–5 mA gold/palladium under vacuum, and examined with a scanning electron microscope (S360 model, Oxford, England).

Results&discussion: Emulsion particle size were found to be in the range of 1.8 to 3.3 μm and wall material concentration had significant effect on it (p<0.05). Increasing the wall material concentration caused decrease in emulsion droplet size. Microparticles size was between 1.2 to 2.5 μm. Increasing the wall material concentration caused increase in powder particle size. Frascareli *et al.*, 2012 & Hogan *et al.*, 2001 observed the same results in their studies. Encapsulation efficiency was significantly increased by increasing wall material concentration.

The formation of spearmint oil microcapsules was confirmed by SEM observation. The outer topography of the microcapsules was presented in Fig. 1.

1 MSc. Student, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University. Mashhad. Iran.

2 and 4- Professors, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University. Mashhad. Iran.

3- Assistant Professor, Food Nanotechnology Department, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran.

(*Corresponding Author Email: a.bostan@rifst.ac.ir)

تشخیص آسیب‌های سطحی ناشی از صدمات مکانیکی میوه انبه رقم کلک سرخ با استفاده از تکنیک پردازش تصاویر رنگی

محمودرضا گلزاریان^{۱*}، منصوره شمیلی^۲، امید دوستی ایرانی^۳، پیمان آذرکیش^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۳

چکیده

سیستم بینایی ماشین یکی از ابزارهای قدرتمند به‌منظور خودکار کردن روش‌های درجه‌بندی محصولات کشاورزی است. در این تحقیق با استفاده از پردازش تصاویر رنگی تهیه‌شده از میوه انبه به تشخیص خرابی‌های ظاهری ناشی از صدمات مکانیکی پرداخته‌شده است. برای این منظور از میان ۸۰ عدد انبه با بازرسی چشمی تعداد ۶۰ نمونه انبه که بر روی آن‌ها لکه‌های سیاه‌رنگ ناشی از آسیب‌های مکانیکی در حین برداشت و جابجایی به وجود آمده بود، تشخیص داده شدند و از هر میوه در شرایط نوردهی یکسان تصویربرداری شد. با استخراج ویژگی‌های رنگی در سه مدل رنگی HSI, RGB و $L^*a^*b^*$ و مقایسه آماری داده‌ها مشخص شد که ویژگی‌های رنگی G و $0.16G/0.5R$ در محیط رنگی RGB به ترتیب با دقت ۹۰٪ و ۹۱/۶٪ و ویژگی‌های رنگی a^* و $0.16L^*-a^*$ از فضای رنگی $L^*a^*b^*$ به ترتیب با دقت ۹۳/۳۳٪ و ۱۰۰٪ قادر به تشخیص بافت آسیب‌دیده می‌باشند. درصد مساحت استخراج‌شده از هر نمونه به‌عنوان معیاری برای درجه‌بندی میوه انبه مورداستفاده قرار گرفت. با استفاده از روش خوشه‌بندی K میانگین نمونه‌ها به دودسته تقسیم‌بندی شدند و نقطه برش بین این دودسته با استفاده از منحنی راک برابر با ۳/۱۱ بدست آمد. مساحت منحنی راک برابر با ۱ بدست آمد که نشان‌دهنده قدرت تفکیک بالای خوشه‌بندی است.

واژه‌های کلیدی: پردازش تصویر، آسیب‌های سطحی، صدمات مکانیکی، تصاویر رنگی، انبه.

مقدمه

برداشت و فنون مناسب حمل‌ونقل و نگهداری دارند (Barchi et al., 2002). میوه‌ها در موقع برداشت (چه به‌صورت دستی یا مکانیزه) و یا در حمل‌ونقل و یا در زمان بسته‌بندی اولیه، دچار آسیب‌های مکانیکی می‌شوند. گاهی این آسیب‌ها باعث آسیب به بافت‌های داخلی میوه نیز می‌شود که ضمن تخریب بافت میوه، باعث خروج مواد داخل سلول و گسترش آسیب‌دیدگی نیز می‌شود که اکثراً ضمن از بین بردن خود میوه، میوه‌های اطراف را نیز تحت تأثیر اثرات منفی خود قرار می‌دهند (Wilson et al., 1999). یک نمونه از این آسیب‌های مکانیکی سرمازدگی محصولات کشاورزی در حین برداشت یا پس از آن می‌باشد. یکی از محصولات کشاورزی که به تغییرات دمایی بسیار حساس است و ممکن است در طی آن آسیب ببیند میوه انبه می‌باشد (Xing & Baerdemaker, 2005). انبه با نام علمی (*Mangifera indica* L.) متعلق به خانواده آناکاردیاسه^۲ و یکی از مهم‌ترین میوه‌های گرمسیری دنیا می‌باشد (Bose et al., 1990؛ hamili et al., 2012). در حال حاضر کشت انبه در ۱۱۱ کشور از ۵ قاره دنیا در

ماشین بینایی که مبتنی بر پردازش تصویر است شاخه‌ای از هوش مصنوعی می‌باشد که در آن بینایی انسان شبیه‌سازی می‌شود. از این سامانه‌ها می‌توان برای کنترل کیفیت، جداسازی و درجه‌بندی محصولات کشاورزی استفاده کرد (پوردربانی و همکاران، ۱۳۸۸). مواد کشاورزی برخلاف مواد مهندسی، بافت‌های زنده‌ای هستند که پس از برداشت از درخت یا بوته، همچنان به حیات خود ادامه می‌دهند؛ بنابراین فرایندهای پس از برداشت مانند حمل‌ونقل و بسته‌بندی باید به‌صورتی باشد که آسیب کمتری به آن‌ها وارد شود؛ بنابراین برای پایین آوردن هرچه بیشتر ضایعات نیاز به مدیریت صحیح پس از

۱ و ۳- استادیار و دانشجوی دکتری، گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، فردوسی مشهد.
۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده، دانشگاه هرمزگان.
۴- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

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

نمونه‌ها و مساحت به‌دست‌آمده از نمای بالای به‌دست‌آمده از تصاویر نمونه‌ها بود.

پوردربانی و همکاران (۱۳۸۸) از سیستم بینایی ماشین برای درجه‌بندی سیب رقم *Granny Smith* بر اساس صدمات سطحی استفاده کردند. باژن و همکاران (۱۳۸۷) از روش پردازش تصویر برای تشخیص ضرب خوردگی و زنگ سیب رقم *Golden Delicious* استفاده کردند. در این درجه‌بندی سیب‌ها در شش کلاس سالم، دم، کاسبرگ، ضرب خوردگی، زنگ دمگاه و زنگ خارج از دمگاه تقسیم شدند. برای اصلاح نواحی طبقه‌بندی‌شده به کلاس ضرب خوردگی، از ویژگی‌های رنگ مایه^۱ و اشباعیت رنگ^۲ از فضای رنگی HSI استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که دقت درجه‌بندی درست برای ۱۲۰ تصویر سیب، ۸۱/۶۶٪ است. Kang و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از سیستم ماشین بینایی به بررسی تغییرات رنگ در میوه انبه به هنگام رسیدگی پرداختند. در این پژوهش اثبات شد که مقادیر رنگ اندازه‌گیری شده برای کانال‌های a و b در سطوح انحنادار میوه انبه به ترتیب برابر با ۵۵٪ و ۶۹٪ هم‌پوشانی با مقادیر اندازه‌گیری شده برای سطوح بدون انحناء می‌باشند.

سراج‌الدین و همکاران (۱۳۹۱) در پژوهشی به طبقه‌بندی سیب بر اساس ویژگی‌های آماری و بافتی با استفاده از طبقه‌بندی ماشین بردار پشتیبان^۳ پرداختند. برای طبقه‌بندی کیفی سیب ابتدا با استفاده از روش خوشه‌بندی کا- میانگین^۴ نواحی سالم و ناسالم (خرابی، کاسه گل و دمگاه) را از هم جدا کرده‌اند. سپس با استخراج ویژگی‌های آماری و بافتی نواحی ناسالم و استفاده از طبقه‌بند ماشین بردار پشتیبان طبقه‌بندی انجام شده‌است. نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهند که ویژگی‌های بافتی نتایج بهتری نسبت به ویژگی‌های آماری موجود به دست می‌آورند به طوری که برای ویژگی‌های آماری به‌دقت طبقه‌بندی ۸۰٪ و برای ویژگی‌های بافتی دقت ۹۲٪ و در مجموع به‌دقت طبقه‌بندی ۸۶٪ رسیده‌اند.

Payne و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تخمین عملکرد محصول انبه با استفاده پردازش تصاویر دیجیتال پرداختند. نتایج این پژوهش نشان داد که از این روش می‌توان به‌منظور تخمین عملکرد محصولات کشاورزی استفاده کرد. همچنین نتایج این تحقیق حاکی از وجود همبستگی خطی بین شمارش دستی و نتایج حاصل از آنالیز تصاویر بود ($R^2 = 0.91$). Haff و همکاران (۲۰۱۳) به تشخیص آلودگی ناشی از وجود حشرات بر روی میوه انبه با استفاده از روش پردازش تصاویر ابر طیفی^۵ پرداختند. الگوریتم مورد استفاده شامل

مناطق گرمسیری تا مناطق نیمه گرمسیری در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه شمالی پراکنده می‌باشد (Victor, 1993). با تولید جهانی نزدیک به ۴۰ میلیون تن در سال ۲۰۱۰، این محصول به یکی از پنج محصول مهم جهانی (بعد از موز، پرتقال، انگور و سیب) تبدیل شده است (FAO, 2012). در ایران کشت انبه با حدود ۳۰۰ تا ۴۰۰ سال قدمت در مناطقی از بلوچستان و هرمزگان متداول است. سطح زیر کشت انبه در سال زراعی ۸۰-۱۳۷۹ در کشور ۱۶۴۰ هکتار، درختان بارور با تولید ۱۲۹۲۸ تن و متوسط عملکرد ۷۸۸۲/۹۳ کیلوگرم در هکتار و ۶۱۸ هکتار نهال باغ‌های تازه احداث بوده است (آمارنامه کشاورزی، ۸۰-۱۳۷۹). سطح زیر کشت انبه در استان هرمزگان ۲۵۶۲ هکتار و عملکرد آن در هکتار ۱۱ تن می‌باشد (حیدری و همکاران، ۱۳۹۰). سهم استان سیستان و بلوچستان ۳۴۴ هکتار درختان بارور با متوسط ۱۲۳۶۰ کیلوگرم در هکتار است که در شهرستان‌های چابهار، نیک شهر و ایرانشهر کشت شده‌اند (آمارنامه کشاورزی، ۸۰-۱۳۷۹). برداشت در مرحله رسیده (کاملاً زرد) به علت نرمی بافت میوه، سبب آسیب‌پذیر بودن میوه به صدمات فیزیکی در هنگام نگهداری و حمل‌ونقل و همچنین کاهش فرصت عرضه محصول به بازار، بخصوص بازارهای دوردست می‌شود (Prasanna et al., 2007). یکی از فاکتورهای تأثیرگذار به هنگام خرید محصولات کشاورزی از نظر مصرف‌کننده شکل ظاهری میوه می‌باشد. عوامل مختلفی ممکن است بر روی شکل ظاهری میوه‌ها تأثیرگذار باشد که در هر صورت سبب افت کیفیت و قیمت آن می‌شود؛ بنابراین درجه‌بندی میوه‌ها قبل از فروش از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد.

در این بین، استفاده از روش‌های پردازش تصویر برای اندازه‌گیری‌های ابعادی، درجه‌بندی و ارزیابی کیفی محصولات جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده است. Omid و همکاران (۲۰۱۰) به تعیین حجم و جرم مرکبات از جمله لیموترش، پرتقال و نارنگی با استفاده از تکنیک پردازش تصاویر پرداختند. برای به دست آوردن حجم نمونه از تبدیل تصویر به المان‌های مخروطی ناقص و جمع حجم المان‌ها استفاده شد. نتایج حاصل از این روش در مقایسه با روش جایجایی آب رضایت‌بخش بود به طوری که ضریب همبستگی برای لیموترش، لیموشیرین، پرتقال و نارنگی به ترتیب برابر با ۰/۹۶، ۰/۹۷، ۰/۹۸ و ۰/۹۵ به دست آمد.

Mata و همکاران (۲۰۱۲) از روش پردازش تصاویر دیجیتال به تخمین جرم انبه پرداختند. هدف از انجام این کار ارائه روشی بر مبنای جرم انبه جهت درجه‌بندی آن بوده است. برای این منظور تعداد صد عدد انبه تهیه و مورد استفاده قرار گرفت؛ و به دو گروه ۵۰ تایی تقسیم شدند. پس از وزن کردن نمونه‌ها از نمای بالای آن‌ها تصویربرداری شد و پس از تعیین مساحت نمونه‌ها از روی تصاویر، یک رابطه بین جرم و مساحت سطح آن‌ها به دست آمد. نتیجه ارزیابی این مدل روی ۵۰ نمونه دوم مستقل حاکی از ضریب همبستگی بالا بین جرم

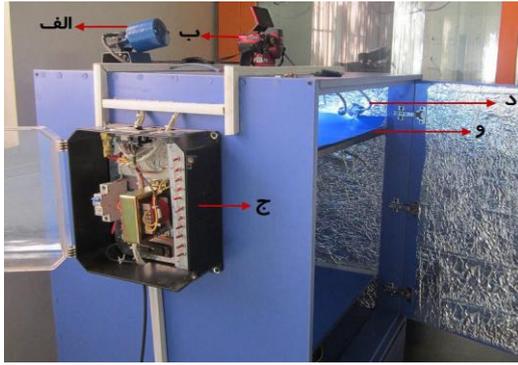
1 Hue

2 Saturation

3 Support Vector Machine

4 k-means

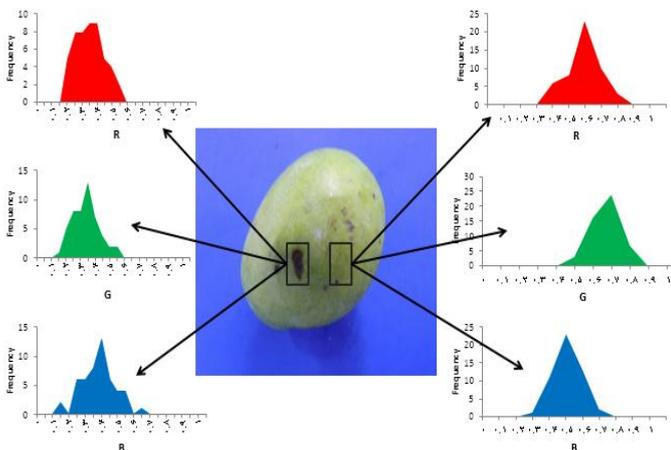
5 Hyperspectral



شکل ۱- اتاقک عکس‌برداری. الف) موتور، جهت تغییر ارتفاع صفحه‌ی پس‌زمینه. ب) دوربین که بر روی پایه‌ی اتاقک نصب شده است. ج) تابلوی کنترل روشنایی و لامپ‌های LED و راه‌اندازی موتور بالا‌برنده. د) لامپ LED به همراه پایه؛ و) صفحه‌ی پس‌زمینه

استخراج ویژگی

پس از تصویربرداری از نمونه‌ها تصاویر موردنظر در نرم‌افزار Matlab نسخه R2011a (Mathworks Inc, US) مورد پردازش قرار گرفتند. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود به‌منظور نمونه‌برداری از میوه انبه پس از فراخوانی تصاویر در نرم‌افزار، از هر انبه بافت آسیب‌دیده و قسمت‌هایی از بافت سالم آن انتخاب و پس از آن ویژگی‌های رنگی از نواحی موردنظر در دو محیط رنگی RGB و L^*a^*b استخراج شدند.



شکل ۲- استخراج ویژگی‌های رنگی دو بافت سالم و آسیب‌دیده انبه تبدیل مدل رنگی RGB به L^*a^*b

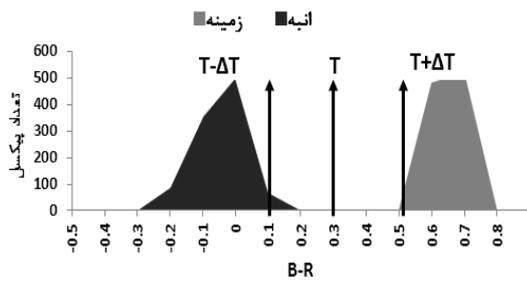
در این تحقیق از دو محیط رنگی RGB و L^*a^*b استفاده شد. مدل رنگ RGB که مدل رنگی پایه نامیده می‌شود، بر اساس این مدل هر رنگ از ترکیب مقادیری از سه رنگ اصلی قرمز، سبز و آبی تشکیل شده است. در فضای رنگی RGB مشکلی که وجود دارد این است که برای مشاهده‌گرهای مختلف نظیر انسان‌ها، سنسورها و...

حذف پیش‌زمینه، اعمال فیلتر گوسی، آستانه‌یابی و آنالیز نهایی به‌منظور تشخیص آلودگی بود. برداشت میوه انبه به علت ارتفاع زیاد درخت با مشکلاتی همراه است که سبب بروز مشکلاتی چون ایجاد صدمات سطحی بر روی آن می‌گردد؛ بنابراین این عامل سبب کاهش کیفیت میوه برای فروش داخلی و یا رقابت در بازارهای جهانی می‌گردد. آسیب‌های مکانیکی سبب بروز لکه‌های سیاه‌رنگی در سطح میوه انبه می‌گردد که علاوه بر کاهش کیفیت ظاهری ممکن است سبب تخریب بافت درونی و در درازمدت سبب تخریب کامل میوه گردد. امروزه هنوز تشخیص خرابی و درجه‌بندی محصولات در بسیاری از موارد به کمک نیروی انسانی متخصص انجام می‌شود که مستلزم وقت و هزینه زیادی است؛ بنابراین با توجه به اهمیت موضوع و تحقیقات انجام‌شده بر روی میوه انبه، شناسایی آسیب‌های سطحی و درجه‌بندی آن بر اساس معیار لکه‌های ناشی از آسیب‌های مکانیکی مورد مطالعه قرار نگرفته است؛ که هدف از این تحقیق تشخیص و شناسایی آسیب‌های سطحی میوه انبه رقم کلک سرخ با استفاده از روش‌های پردازش تصاویر دیجیتال می‌باشد. علت استفاده از روش ماشین بیانی در این پژوهش نیز، دقت و سرعت عمل بیشتر این تکنیک در مقایسه با روش‌های عمدتاً دستی است.

مواد و روش‌ها

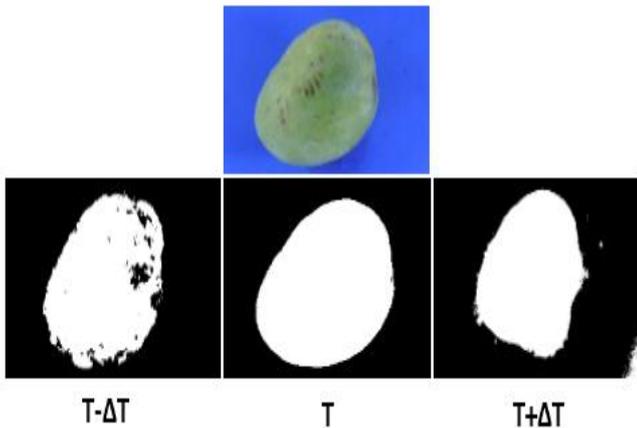
تهیه، آماده‌سازی و تصویربرداری

برای این منظور تعداد ۸۰ عدد انبه کلک سرخ در خردادماه ۱۳۹۳ از باغات میناب واقع در استان هرمزگان تهیه شد و به آزمایشگاه پردازش تصویر (دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲۲٪) گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شدند. با بازرسی چشمی تعداد ۶۰ نمونه انبه که بر روی آن‌ها لکه‌های سیاه‌رنگ ناشی از آسیب‌های مکانیکی در حین برداشت و جابجایی به وجود آمده بود، تشخیص داده شد و مورد تصویربرداری قرار گرفتند. جهت تصویربرداری از اتاقک تصویربرداری شکل ۱ استفاده شد (گلزاریان و همکاران، ۱۳۹۲). تصاویر در طیف مرئی توسط یک دوربین Nikon Coolpix P510 Nikon Inc, Japan با قدرت تفکیک ۱۶/۱ مگا پیکسل تهیه شد. به‌منظور قرارگیری کامل نمونه‌ها در حوزه دید دوربین، با توجه به فاصله کانونی لنز در دوربین فاصله بین دوربین و نمونه‌ها ۲۰ cm در نظر گرفته شد. نورپردازی مناسب به هنگام تصویربرداری سبب سهولت در آنالیز تصاویر می‌گردد. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود نورپردازی به نحوی است که از تشکیل سایه و نقاط متمرکز نوری در تصویر جلوگیری شود. همچنین از یک پس‌زمینه به رنگ آبی برای تصویربرداری استفاده شد.



شکل ۳- هیستوگرام تعیین حد آستانه مناسب به منظور جدا کردن انبه از زمینه

طبیعی است که عدم انتخاب صحیح آستانه می‌تواند سبب جدا نکردن کامل میوه از پس‌زمینه یا تشخیص قسمت‌هایی از پس‌زمینه نیز به عنوان میوه شود که در هر دو حالت این خطاها در عدم صحت مقادیر فاکتورهای رنگی و شکلی جداشده از شکل تأثیرگذار است (شکل ۴).



شکل ۴- نمایش انتخاب صحیح حد آستانه به منظور جداسازی تصویر از زمینه

قطعه‌بندی تصویر

در این مرحله لازم است که نواحی مختلف بر روی انبه از لحاظ ویژگی‌های بافتی دسته‌بندی شوند. این نواحی شامل نواحی سالم و نواحی آسیب‌دیده می‌باشند. برای این منظور از مقایسه آماری بین مؤلفه‌های رنگی استفاده کرده و با استفاده از ترسیم هیستوگرام برای هر ویژگی بهترین کانال‌های رنگی برای این منظور به دست آمد (شکل ۵). نتایج نشان داد که ویژگی‌های رنگی G و $0.16G/0.5R$ در محیط رنگی RGB و ویژگی رنگی a^* و $a^*-0.16L^*$ در محیط $L^*a^*b^*$ از سایر ویژگی‌های رنگی به منظور تشخیص مناسب‌تر می‌باشند.

به منظور تشخیص بافت آسیب‌دیده از سالم با استفاده از کانال رنگی G مقدار حد آستانه با استفاده از نمودارهای هیستوگرام (شکل

تعریف واحدی برای اطلاعات رنگی موجود نمی‌باشد. به عبارتی در فضای RGB مشخصات رنگی نیمه شهودی و وابسته به وسایل اندازه‌گیری می‌باشد. در فضای رنگی XYZ اجزای رنگ‌های پایه رنگ‌های واقعی نیستند. میزان درخشندگی رنگ در این فضا بر خلاف فضای RGB فقط به پارامتر (Y) وابسته است و بقیه پارامترها، ویژگی‌های رنگی را پوشش می‌دهند. برای تبدیل مدل RGB به مدل رنگی $L^*a^*b^*$ یکی از روش‌ها تبدیل مستقیم مقادیر RGB به $L^*a^*b^*$ می‌باشد (Leon et al., 2006). در این روش، ابتدا فضای رنگی RGB به فضای رنگی پایه XYZ تبدیل و با استفاده از رابطه ۱ مقدار L^* که بیانگر میزان درخشندگی در تصویر می‌باشد به دست می‌آید. در رابطه ۲ مقدار a^* قابل محاسبه می‌باشد که این مقدار بیانگر میزان تغییر رنگ از سبز به قرمز و در رابطه ۳ مقدار b^* به دست می‌آید که بیانگر میزان رنگ از آبی به زرد است.

$$L^* = \begin{cases} 116 \left(\frac{Y}{Y_n}\right)^{1/8} - 16 & \text{if } \frac{Y}{Y_n} > 0,008856 \\ 903,3 \left(\frac{Y}{Y_n}\right) & \text{if } \frac{Y}{Y_n} \leq 0,00856 \end{cases} \quad (1)$$

$$a^* = 500 \left[\left(\frac{X}{X_n}\right)^{1/3} - \left(\frac{Y}{Y_n}\right)^{1/3} \right] \quad (2)$$

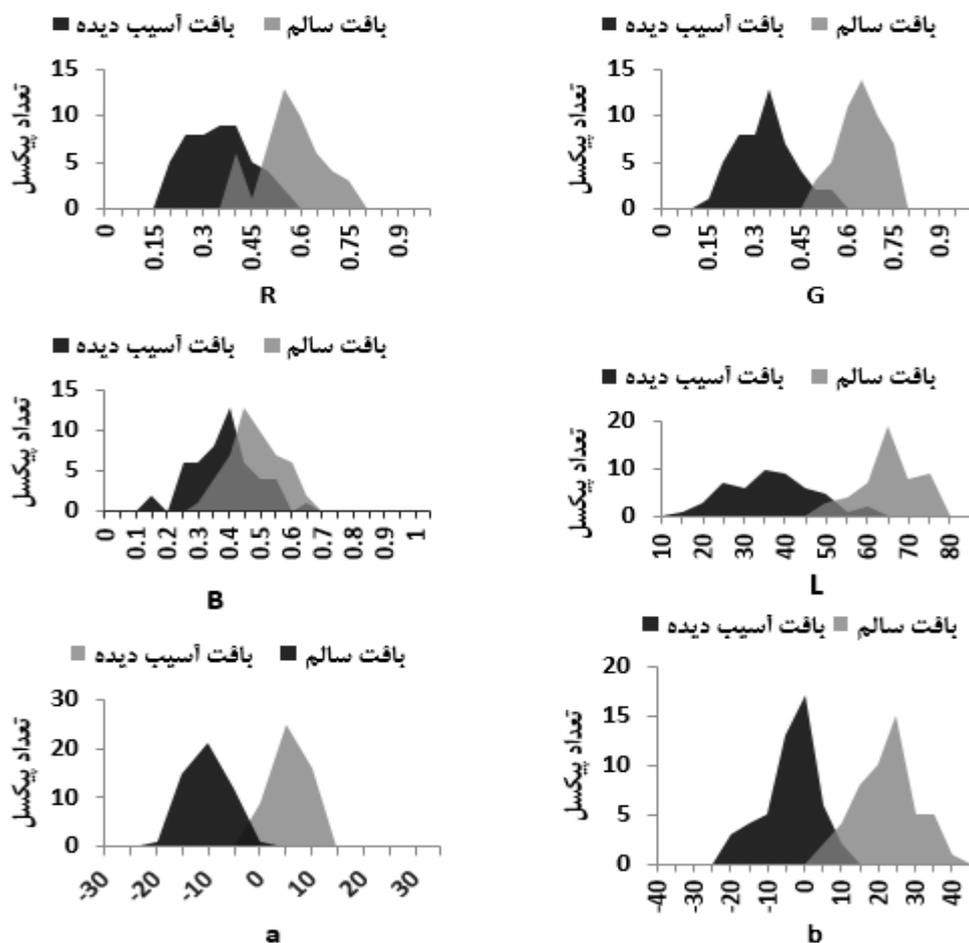
$$b^* = 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_n}\right)^{1/8} - \left(\frac{Z}{Z_n}\right)^{1/8} \right] \quad (3)$$

جداسازی انبه از پس‌زمینه و نمایش باینری تصویر

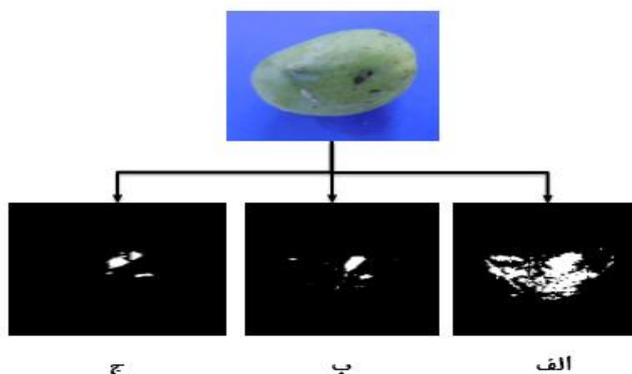
یکی از مهم‌ترین مراحل اصلی و اولیه در پردازش تصویر و استخراج اطلاعات از تصاویر به منظور خودکار کردن یک فرآیند جداسازی شی موردنظر از پس‌زمینه است که در حوزه پردازش تصویر به نام قطعه‌بندی یا بخش‌بندی نیز شناخته می‌شود. دقت و عملکرد الگوریتم بخش‌بندی در کیفیت ویژگی‌هایی که از تصاویر استخراج می‌شود و در مراحل بعدی پردازش مورد استفاده قرار می‌گیرند تأثیرگذار است. یکی از روش‌های معمول به منظور بخش‌بندی و جداسازی تصویر از زمینه آن، استفاده از آستانه‌گیری با استفاده از هیستوگرام تصویر می‌باشد. با استفاده از هیستوگرام تصویر، می‌توان بهترین حد آستانه را برای جداسازی بدست آورد. جهت جدا کردن تصویر انبه از پس‌زمینه به دلیل رنگ آبی پس‌زمینه از تفاضل دو کانال رنگی قرمز (R) و آبی (B) استفاده شد. مقدار حد آستانه بهینه به منظور جداسازی انبه از پس‌زمینه برابر با $0/3$ در نظر گرفته شد (شکل ۳).

ناصحیح در تصویر موردنظر گردد. در شکل ۷ مراحل تشخیص بافت آسیب‌دیده با استفاده از کانال رنگ سبز نمایش داده شده است. پس از نمایش باینری تصویر ناحیه موردنظر با استفاده از حد آستانه به دست آمده جدا شد.

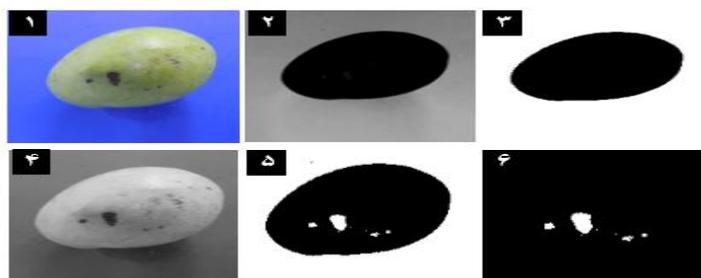
(۵) برابر با ۰/۴ در نظر گرفته شد. طبیعی است با کاهش این مقدار به ۰/۳ یا افزایش آن به ۰/۵ ممکن است میزان خطای تشخیص دچار تغییر شود. در شکل ۶ نحوه تشخیص بافت آسیب‌دیده با مقادیر کمتر و بیشتر از حد آستانه نمایش داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تغییرات جزئی در انتخاب آستانه می‌تواند سبب تشخیص



شکل ۵- هیستوگرام حاصل از کانال‌های رنگی بین دو بافت سالم و آسیب‌دیده

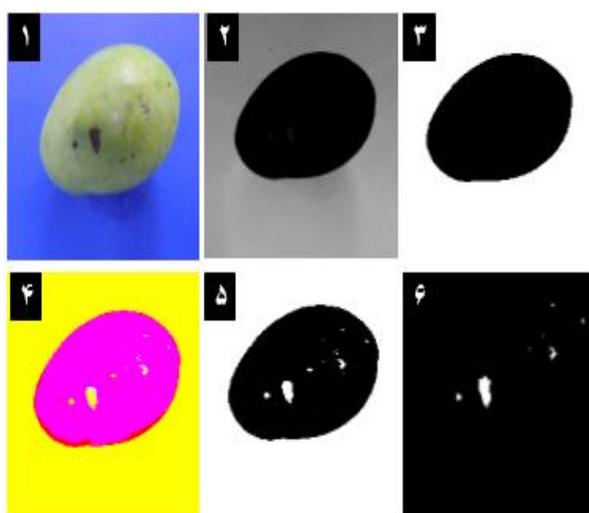


شکل ۶- تشخیص بافت آسیب‌دیده با مقادیر کمتر و بیشتر از حد آستانه با استفاده از کانال رنگی G. (الف)، حد آستانه ۰/۵ (ب)، حد آستانه ۰/۴، (ج)، حد آستانه ۰/۳

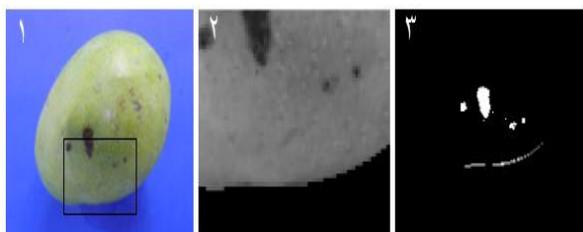


شکل ۷- تصویر اولیه. (۲) تصویر حاصل از تفاضل دو کانال آبی و قرمز. (۳) تصویر باینری شده. (۴) نمایش کانال سبز تصویر. (۵) جداسازی بافت آسیب‌دیده با استفاده از حد آستانه ۴/۰ (۶) جداسازی ناحیه آسیب‌دیده

استفاده شد. در شکل ۱۰ نمونه‌ای از این تصاویر مشاهده می‌شود.



شکل ۹- تصویر اولیه (۲) تصویر حاصل از تفاضل دو کانال آبی و قرمز. (۳) تصویر باینری شده. (۴) تصویر تبدیل شده از محیط RGB به محیط L^*a^*b . (۵) نمایش کانال a تصویر. (۶) جداسازی بافت آسیب‌دیده با استفاده از حد آستانه

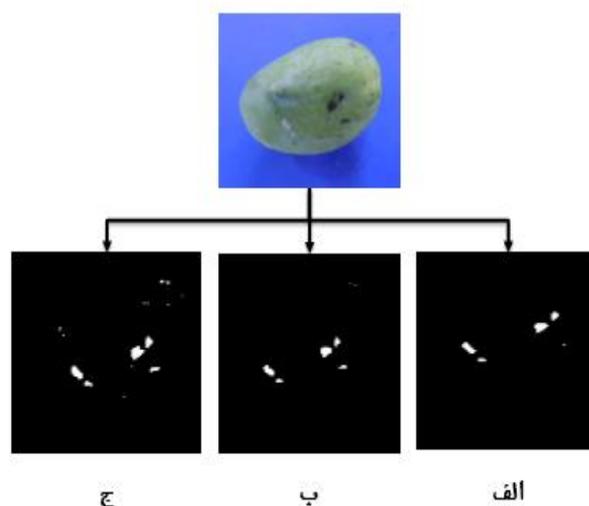


شکل ۱۰- نمایش لبه‌های تصویر در تصویر خروجی. (۱) تصویر اصلی. (۲) کانال سبز تصویر. (۳) جدا شدن ناحیه آسیب‌دیده به همراه قسمتی از لبه تصویر

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها شامل خوشه‌بندی به روش کا- میانگین از نرم‌افزار SPSS 16 و برای درجه‌بندی داده‌ها و رسم

حساسیت تعیین آستانه مناسب با استفاده از کانال رنگی a^* در شکل ۸ نمایش داده شده است. با تغییر در این مقدار نیز نحوه نمایش بافت آسیب‌دیده دچار تغییر می‌شود. در شکل ۸ در قسمت‌های (الف) و (ج) به ترتیب تصاویر خروجی حاصل از مقادیر بیشتر و کمتر از حد آستانه نمایش داده شده است. به دلیل وجود بازتابش نور متفاوت در لبه‌های تصویر و یکنواخت نبودن نورپردازی لبه‌های تصویر ایجاد غیریکنواختی در رنگ می‌کنند. به هنگام باینری نمودن تصویر ممکن است لبه‌های آن به خوبی جدا نشوند و یا پیکسل‌هایی در لبه‌ها وجود داشته باشد که مقادیر آن‌ها با مقادیر رنگی ناحیه موردنظر یکسان باشد که نتیجه آن لبه سفیدرنگی در تصویر نهایی می‌باشد.



شکل ۸- تشخیص بافت آسیب‌دیده با مقادیر کمتر و بیشتر از حد آستانه با استفاده از کانال رنگی a^* . (الف)، حد آستانه ۰ (ب)، حد آستانه ۲- (ج)، حد آستانه ۵-.

این موارد سبب خطا در تشخیص می‌شوند به‌عنوان مثال اگر مساحت ناحیه آسیب‌دیده موردنظر باشد در تعیین مقدار واقعی مساحت با خطا همراه است. برای غلبه بر این مشکل از روش‌های مورفولوژیکی سایش و افزایش با امان ساختاری خطی برای حذف نواحی که به دلیل عدم یکنواختی نورپردازی احتمال ایجاد آن می‌رود

از ۱۵ درصد باشد و در گروه سوم نمونه‌هایی قرار می‌گیرند که مساحت ناحیه آسیب‌دیده در آن‌ها بیشتر از ۲۵ درصد باشد. با توجه به این استاندارد می‌توان میوه‌های انبه با مساحت آسیب‌دیدگی کمتر از ۵ درصد را درجه ۱، بین ۵ تا ۱۵ درصد را درجه ۲ و بین ۱۵ تا ۲۵ درصد را درجه سه نام‌گذاری کرد.

در این تحقیق با استفاده از روش خوشه‌بندی k میانگین به خوشه‌بندی درصد مساحت‌های حاصل از الگوریتم تشخیص ناحیه آسیب‌دیده بر مبنای رابطه $0.16L^* - a^*$ پرداخته شده است. در جدول ۲ نتایج حاصل از خوشه‌بندی درصد مساحت ناحیه آسیب‌دیده در دو خوشه بیان شده است.

جدول ۱- بیان دقت تشخیص ناحیه آسیب‌دیده با استفاده از الگوریتم‌های مختلف

ویژگی‌های رنگی	تعداد نمونه	تشخیص	عدم تشخیص	دقت الگوریتم
a	۶۰	۵۶	۴	۹۳/۳۳٪
G	۶۰	۵۴	۶	۹۰٪
0.16G/0.5R	۶۰	۵۵	۵	۹۱/۶۶٪
0.16L*-a*	۶۰	۶۰	۰	۱۰۰٪

جدول ۲- نتایج حاصل از خوشه‌بندی درصد مساحت آسیب‌دیدگی

انحراف استاندارد	انحراف معیار	میانگین	تعداد اعضا	شماره خوشه
۰/۲۷	۱/۰۵	۴/۶۶	۱۵	۱ (درجه ۲)
۰/۱۰	۰/۷۱	۱/۱۹	۴۵	۲ (درجه ۱)

به منظور مقایسه نتایج حاصل از خوشه‌بندی با استاندارد آمریکایی (USDA) از ماتریس درهم ریختگی به صورت جدول ۳ استفاده شد. در سطرهای این جدول دسته‌بندی بر اساس استاندارد آمریکایی و در ستون‌های این جدول دسته‌بندی بر اساس خوشه‌بندی داده‌ها به روش k میانگین بیان شده است. از نمونه‌های موجود ۴۵ نمونه هم در درجه ۱ استاندارد آمریکا و هم درجه ۱ خوشه‌بندی قرار می‌گیرند ولی ۱۰ نمونه درحالی که در درجه ۱ استاندارد آمریکا قرار می‌گیرند در درجه ۲ خوشه‌بندی، دسته‌بندی می‌شوند. ۵ نمونه باقی‌مانده هم در درجه ۲ استاندارد آمریکا و هم در درجه ۲ خوشه‌بندی قرار می‌گیرند.

با توجه به اینکه در خوشه‌بندی انجام‌شده نمونه‌ها در دو خوشه در بهترین حالت قرار گرفتند لازم است یک نقطه به منظور مرز بین این دو درجه مشخص شود. این نقطه، نقطه برش نامیده می‌شود. برای این منظور از منحنی راک^۱ استفاده شد (شکل ۵). در این روش همه مشاهدات به صورت یکی یکی جهت دسته‌بندی مورد ارزیابی قرار می‌گیرند و نتایج آن با دسته‌بندی موجود در استاندارد اصلی مقایسه

منحنی راک و انتخاب بهترین نقطه برش^۱ از نرم‌افزار آنالیز آماری (Stata Corp) STATA استفاده شده است. منحنی راک نموداری است که از تقسیم نسبت حساسیت (میزان مثبت واقعی) بر میزان مثبت کاذب بدست می‌آید. در این حالت هرچه منحنی به گوشه چپ نمودار بیشتر باشد، صحت آن بیشتر است. در مورد آنالیزهای بکار رفته جلوتر توضیح داده خواهد شد.

نتایج و بحث

پس از بررسی ویژگی‌های رنگی و ترکیب آن‌ها با یکدیگر بهترین حالات به منظور تشخیص آسیب‌های سطحی میوه انبه انتخاب شدند که در جدول (۱) دقت هر کدام از این ویژگی‌ها به تفکیک بیان شده است. با استفاده از کانال رنگی a^* از میان ۶۰ نمونه مورد آزمایش تنها ۵۶ نمونه آسیب‌دیدگی تشخیص داده شد که دقت الگوریتم مورد استفاده در این حالت برابر با ۹۳/۳۳٪ است. با استفاده از کانال رنگی G از ۶۰ نمونه مورد آزمایش ۵۴ مورد تشخیص داده شد و دقت الگوریتم به دست آمده در این حالت برابر با ۹۰٪ بدست آمد. با استفاده از ترکیب کانال‌های رنگی سبز و قرمز به صورت 0.16G/0.5R از ۶۰ نمونه مورد آزمایش در ۵۵ نمونه آسیب‌دیدگی سطحی تشخیص داده شد و دقت الگوریتم مورد استفاده برابر با ۹۱/۶۶٪ به دست آمد. در ترکیب دو کانال L^* و a^* به صورت رابطه $0.16L^* - a^*$ در ۶۰ نمونه مورد آزمایش آسیب‌دیدگی سطحی تشخیص داده شد و دقت الگوریتم مورد استفاده در این حالت برابر با ۱۰۰ درصد به دست آمد که نسبت به ویژگی‌های دیگر بیشتر است. در محیط رنگی $L^*a^*b^*$ تأثیر نور و بازتابش از محیط اطراف نمونه سبب تغییر در مقادیر رنگی نمی‌گردد؛ بنابراین یکی از دلایل خطای به وجود آمده در محیط رنگی RGB می‌تواند ناشی از تابش غیریکنواخت نور و ایجاد نقاط متمرکز نوری یا نقاط تاریک بر روی نمونه باشد.

یکی از استانداردهای موجود برای درجه‌بندی میوه انبه با استفاده از خرابی‌های سطحی استفاده از درصد مساحت خرابی که از نسبت مساحت خرابی به مساحت کل میوه انبه بدست می‌آید محاسبه می‌شود. در استانداردهای آمریکایی (USDA, 2006) میوه انبه بر اساس درصد خرابی‌های سطحی در سه گروه آسیب‌دیدگی جزئی^۲، آسیب‌دیدگی متوسط^۳ و آسیب‌دیدگی با شدت زیاد^۴ تقسیم‌بندی شده‌اند. در گروه اول نمونه‌هایی قرار می‌گیرند که مساحت ناحیه آسیب‌دیدگی در آن‌ها بیشتر از ۵ درصد باشد. در گروه آسیب‌دیدگی متوسط نمونه‌هایی قرار می‌گیرند که مساحت ناحیه آسیب‌دیده بیشتر

- 1 Cut Point
- 2 Injury
- 3 Damage
- 4 Serious damage

بیشتر باشد، منحنی بالای قطر مربع به حالت ایده آل (مساحت یک) نزدیک‌تر خواهد بود. با توجه به نتایج حاصل در جدول ۴، در این آزمایش از تعداد ۶۰ مشاهده مقدار مساحت در منحنی راک برابر با ۱، خطای استاندارد برابر با صفر و نقطه برش نیز برابر با ۳/۱۱ به دست آمد.

می‌شوند؛ و دو مقیاس حساسیت و قدرت تشخیص گزارش داده می‌شود؛ بنابراین نقطه‌ای که در آن هم حساسیت و هم قدرت تشخیص برابر با یک باشد به‌عنوان مرز بین دو گروه معرفی می‌شود. در این نمودار محور عمودی بیانگر حساسیت و محور افقی بیانگر قدرت تشخیص می‌باشد. هرچه قدرت تشخیص و حساسیت این تست

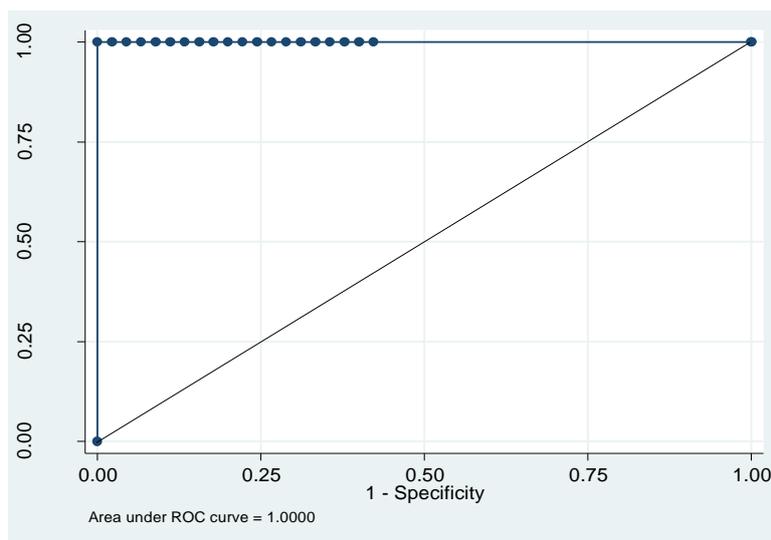
جدول ۳- ماتریس درهم ریختگی کلاس‌بندی بر اساس استاندارد آمریکا

نتیجه کلاسه‌بندی الگوریتم			
کل	درجه ۲	درجه ۱	
۵۵	۱۰	۴۵	درجه ۱
۵	۵	۰	درجه ۲
۶۰	۱۵	۴۵	کل

استاندارد آمریکا

جدول ۴- نتایج حاصل از آزمون راک

تعداد مشاهدات	مساحت منحنی	خطای استاندارد	نقطه برش
۶۰	۱	۰	۳/۱۱



شکل ۱۱- منحنی راک

به‌منظور درجه‌بندی با استفاده از منحنی راک نقطه برش ۳/۱۱ بدست آمد. با توجه به استعداد استان هرمزگان از نظر شرایط آب و هوایی، امکان توسعه سطح زیر کشت انبه به‌منظور مصرف تازه‌خوری، صادرات و نیز ایجاد صنایع غذایی وابسته وجود دارد. از این‌رو جهت افزایش تولید و توسعه سطح زیر کشت این محصول، توجه به درجه‌بندی آن با توجه به شاخص‌های حاصل از تحقیق جهت عرضه محصول مرغوب و باکیفیت بالا به بازارهای داخلی و جهانی توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

دقت روش پردازش تصویر تحت هیچ شرایطی از روش‌های معمول شناسایی صدمات سطحی کمتر نیست؛ بنابراین در این تحقیق درجه‌بندی میوه انبه بر اساس خرابی‌های سطحی ناشی از صدمات مکانیکی صورت گرفت. برای تشخیص این آسیب‌ها از چهار ویژگی رنگی a ، G ، $0.16G/0.5R$ و $0.16L^* - a^*$ استفاده شد که دقت الگوریتم‌ها به ترتیب برابر ۹۳/۳۳، ۹۰، ۹۱/۶۶ و ۱۰۰ درصد بدست آمد. پس از تعیین مساحت، آسیب‌های سطحی فاکتور مساحت آسیب‌دیدگی محاسبه شد و با استاندارد USDA مقایسه گردید و

قدردانی

بخشی از منابع این پروژه را تأمین نموده‌اند، سپاسگزاری می‌نمایند.

بدین وسیله نگارندگان از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشکده-های کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و دانشگاه هرمزگان که

منابع

- Agricultural statistics for the years 2010-2012 (Persian Calendar: 1379-1380). Department of Budget and Planning, Statistics and Information Office, Ministry of Agriculture Jihad. Tehran (in Persian).
- Barchi, G.L., Berardinelli, A., Guarnieri, A., Ragni, L. & Totaro Fila, C., 2002, Damage to loquasts by vibration-simulating intra-state transport. *Biosyst Eng*, 82, 305-312.
- Bazhan, M., & Kabir, E. (2007). Detection of Surface Defects on Apples for Quality Grading. *Iranian Journal of Electrical and Computer Engineering*, 6, 25-34. (in Persian).
- Bose, T.K. & Mitra. S.K., 1990. Fruits: Tropical and subtropical. Naya Prokash Pub., Calcutta, India.
- FAO, 2012, FAO Statistics database, accessed on 22nd december (2014), from <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>. Accessed August 2012.
- Golzarian, M. R. , Sadeghi F., Ghanei-Ghooshkhaneh N. , Kazemi F. , 2016, A qualitative and quantitative approach to assessing the performance of contrast enhancing colour indices used in automatic computer vision plant identification system. The 8th National Congress on Agricultural Machinery (Biosystems) Engineering and Mechanization, Mashhad, Iran. (in Persian).
- Haff, R.P., Saranwong, S., Thanapase, W., Janhira, A., Kasemsumran, S. & Kawano. S., 2013. Automatic image analysis and spot classification for detection of fruit fly infestation in hyperspectral images of mangoes. *Postharvest Biol Tec*, 86, 23-28.
- Heidari, M. , Dastjerdi, A. , & Moradi, N. (2011). Effects of Potassium Permanganate and Storage Time on Quality of Mango Fruits (*Mangifera indica L.*). *Journal of Horticulture Science*, 25(2): 130-136. (in Persian).
- Kang, S.P., East, A.R. & Trujillo, F.J., 2008. Colour vision system evaluation of bicolour fruit A case study with 'B74' mango. *Postharvest Biol Tec*, 49, 77-85.
- Leon, K., Mery, D., Pedreschi F. & Leon, J., 2006. Color measurement in L* a* b* units from RGB digital images. *Food Res Int*, 39, 1084-1091.
- Mata, C., Duarte, M.E.M., Borges, F.F. & Barbacena, I.L., 2012, An adaptive threshold level for segmentation of grayscale images using image processing to sort mangoes by weight estimation. *Postharvest Technology in the Global Market*.
- Omid, M., Khojastehnazhand, M. & Tabatabaeefar, A., 2010, Estimating volume and mass of citrus fruits by image processing technique. *J Food Eng*, 100, 315-321.
- Payne, A.B., Walsh, K.B., Subedi, P.P. & Jarvis, D., 2013, Estimation of mango crop yield using image analysis – Segmentation method. *Comput Electron Agric*, 91, 57-64.
- Pordarbani, R., Gasemzadeh, H., Golzadeh, A., & Behfar, a. H. (2009). Feasibility Study of Apple Quality Grading Using Image Processing. *Journal of Food Research*, 19, 75-85. (in Persian).
- Prasanna, V., Prabha, T.N. & Tharanthan, R.N., 2007. Fruit ripening phenomena—an overview, *Crc Cr Rev Food Sci*. 47, 1-19.
- Shamili, M., Fatahi, R. & Hormaza, J.I., 2012, Characterization and evaluation of genetic diversity of Iranian mango (*Mangifera indica L*, Anacardiaceae) genotypes using microsatellites. *Sci. Horticult*, 148, 230-234.
- Srajaldin, A., Moalem, P., & Pourghasem, H. (2012). Apple Classification using statistical characteristics and tissue using SVM classifier. First National Conference on New Ideas in Electrical Engineering. Islamic Azad University Isfahan (Khorasgan) Branch, Esfahan, Iran (in Persian).
- USDA. 2006. Mangos. Shipping Point and Market. Inspection Instructions, accessed on 2/12/2014 from <http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/>
- Victor, S., 1993. The situation of mango culture in the world. *Acta Hort*, 341, 31-41.
- Wilson, L.G., Boyette, M.D. & Estes, E.A., 1999, Postharvest Handling and Cooling of Fresh Fruits, Vegetables, and Flowers for Small Farms. *NCCES*. 804.
- Xing, J. & Baerdemaker, J.D., 2005, Fresh bruise detection on selected cultivars apples using visible and NIR spectroscopy. *Postharvest Biol Tec*, 45, 176-183.

Detection of surface defects caused by mechanical damages on Mangos of Kelk-e Sorkh variety with the use of color image processing

M. R. Golzarian^{1*}, M. Shamili², O. Doosti Irani³, P. Azarkish⁴

Received: 2015.11.25

Accepted: 2016.03.13

Introduction: Machine vision, which uses image processing techniques, is a branch of artificial intelligence that simulates human vision. These systems can be used for quality control, sorting and grading of agricultural products. Unlike engineering materials, agricultural fruits are living tissues that continue living even after they are harvested from trees or bushes. Therefore, the post-harvest process such as handling and packaging need to be done such that they make the least damage to these products (Barchi et al., 2002). Combination of suitable techniques and post-harvest management is required to bring down the waste loss in this supply chain. Fruits are susceptible to receive mechanical damages during harvesting (either manually or mechanized), or in transport or at the time of initial packaging. These damages may cause damage to the internal tissue of the fruit that subsequently causes the internal substances of the damaged cell leave spread out. While eradicating the fruit, the surrounding fruits are also affected negatively. Mangos are sensitive to mechanical and thermal sudden change (Xing & Baerdemaker, 2005). Today, surface defect detection and grading of many fruits including mangos are still performed in many cases with the help of trained workers which is time consuming and cost effective. Image processing has been successfully used for measurement and calibration of products; it shows also a good potential to be used for assessing the quality of products (Mata et al, 2012). There has been no or very little research on the quality assessment of mangos based on the dark spots on the skin surface of mango fruits. The aim of this study was to detect and identify surface damage in mangoes of Kelk-e Sorkh cultivar using digital image processing as it has higher accuracy and processing speed as opposed to manual detection.

Materials and methods: Mango fruits were picked from a garden in Minab in Hormozgan province, in Iran. Sixty samples were selected for imaging. These samples had black spots on the skin surface due to mechanical damages received during harvesting and handling. The imaging was performed in a homogenously controlled lighting condition (in an imaging box) against a blue sheet as background and at 24°C and 22% RH. The images were taken in visible range with a Nikon Coolpix P510 digital camera (Nikon Inc, Japan) of 4928 x 3264 dimensions (16.1 MP resolution). Considering the camera lens's focal length, the samples were placed 20 cm under the camera's lens to be in camera's field of view. The taken images were read and analyzed in Matlab (Ver 2011a, Mathworks Inc, US). The quality of segmentation process, which is an important step in image processing project, affects the quality of information extracted from the objects or regions of interest (ROIs) in the next steps. The images of mangos were segmented from the background using thresholding of the high contrast images of red and blue difference. The optimum threshold value was obtained to be 0.3. Then, the affected and healthy regions of mangos were specified manually in each image. Then, the color features in two L*a*b* and RGB and HSI color models were extracted from each region on the sample surface.

Results and discussion: The statistical analysis of these features showed that the accuracies for detecting the surface defects on mangos were 90% and 91.6% using the color factor of G and $0.16 \cdot G / 0.5R$ in RGB color space, respectively. However, from the a* data, only 56 samples were correctly classified as damaged. This showed the classification accuracy of 93.33% using this color parameter. The accuracy reached to 100% when the two color parameters of a* and L* was used as an integrated color parameter of $0.16 \cdot L - a^*$. In L*a*b* color space, the influence of ambient light on the color of samples is trivial and much less than that on RGB. This can be the reason for higher classification error when R, G and B color components, which might be due to non-

1 And 3- Assistant professor and PhD student, Department of Biosystems Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Assistant professor, Department of Horticultural Sciences, Hormozgan University, Iran.

4- Former MSc student, Department of Horticultural Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

(* Corresponding author email address: m.golzarian@um.ac.ir)

uniform lighting and the existence of highly bright or highly dark points on the surface of samples. According to USDA standard, the ratio of the size of defect region to the size of whole fruit can be used as an indicator for grading mangos (USDA, 2006). In this research, the k-means clustering was used to group the mangos based on their defect region size. The results showed that the mangos could be classified into three categories of grade 1, with the defect size of less than 5% of the total area, grade 2: when the defect region size was between 5 and 15% and grade 3: when the defect area size was more than 15% and less than 25%. By K-means clustering, the samples were grouped in two clusters. The cut-off point between two clusters was found from the ROC curve to be 3.11. The parameter of ROC area was equal to unity, which indicated the high discrimination capability of the clustering model.

Conclusion: In this research, after assessing several color factors and their combinations, four color components of a^* , green (G), $2G/R$ and $L^*-0.16a^*$ were selected and used for classifying mechanically defected mangos and the results were promising. The results of this research and similar ones can provide helpful recommendations in grading mangos considering the higher capability of Hormozgan province in Iran for producing mangos for fresh consumption, being used in high-quality domestic market, being exported to global markets.

Keywords: Image processing, Surface defects, Mechanical damages, Color images, Mango

تأثیر غلظت‌های مختلف گلیسرول بر ویژگی‌های فیلم ترکیبی بر پایه پلی وینیل الکل - صمغ قدومه شیرازی

لیلا منجذب مرودشتی^۱، مسعود یاورمنش^{۲*}، آرش کوچکی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۲۹

چکیده

فیلم زیست تخریب‌پذیر ترکیبی با استفاده از پلی‌وینیل الکل - صمغ قدومه شیرازی با نسبت ۶۰ به ۴۰ با افزودن شش غلظت مختلف گلیسرول (۷۰٪-۲۰٪) به روش قالب‌گیری ساخته شد. ویژگی‌های فیلم شامل ضخامت، دانسیته، میزان رطوبت، جذب رطوبت، حلالیت در آب، زاویه تماس قطره آب، رنگ، نرخ عبور بخار آب و خواص مکانیکی آنها مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در ضمن از آزمون‌های طیف‌سنج مادون قرمز و میکروسکوپ الکترونی نیز برای بررسی برهمکنش‌های شیمیایی و ویژگی‌های ریزساختار فیلم‌ها استفاده شد. افزایش غلظت گلیسرول بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) باعث افزایش ضخامت، میزان رطوبت، جذب رطوبت، حلالیت در آب، دانسیته، شفافیت، کاهش زاویه تماس، نفوذپذیری به بخار آب و کدورت گردید. افزایش غلظت گلیسرول بر پارامترهای رنگ نیز اثر گذاشت، بطوری که میزان روشنایی و زردی فیلم را بترتیب از ۹۰ به ۹۴/۴ و از ۰/۵ به ۱/۳ افزایش و میزان قرمزی را از ۰/۹ به ۰/۵ کاهش داد. بطور کلی فاکتورهای رنگی شامل اندیس سفیدی، اندیس زردی و میزان اشباعیت رنگ افزایش و اختلاف رنگ نمونه‌ها با پلیت سفید کاهش یافت. آزمون مکانیکی فیلم‌ها نشان داد که مقاومت کششی از ۶۴/۶ به ۱۳/۲ و مدول یانگ نیز از ۸۹۲ به ۱۵۶/۸۵ مگاپاسکال کاهش و درصد کشیدگی از ۲/۱ به ۱۵/۴۷ درصد افزایش یافت. افزایش غلظت گلیسرول، نفوذپذیری به بخار آب را تا بیش از ۴/۷ برابر افزایش داد. با افزایش غلظت گلیسرول تغییر اندکی در ساختار فیلم‌ها مشاهده شد. فیلم‌ها با نسبت بالاتر گلیسرول تصاویر ریزساختار با سطوح یکنواخت و بدون منفذی را نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: پلی‌وینیل الکل، صمغ قدومه شیرازی، گلیسرول، فیلم زیست تخریب‌پذیر

مقدمه

شده و از آلودگی محیط زیست و سایر اثرات مخرب جلوگیری می‌کند.

معمولا فیلم بر پایه یک پلیمر زیستی نسبت به شرایط محیطی بسیار حساس بوده و بطور کلی دارای مقاومت مکانیکی پایینی می‌باشد (Kanatt et al., 2012). فیلم‌های ترکیبی را می‌توان توسط روش‌های مختلفی تولید کرد. ترکیب پلیمر یک روش مؤثر در جهت حصول مواد جدید با خواص مورد نظر است (Kanatt et al., 2012). معمولا ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های تشکیل شده از طریق ترکیب پلیمرها در مقایسه با فیلم‌های تکی اصلاح می‌شود. در سال‌های اخیر اختلاط فیزیکی پلیمرهای زیستی و پلیمرهای مصنوعی برای رسیدن به ویژگی‌های مورد نظر توجه بسیاری را به خود جلب کرده است. از آنجا که پلیمرهای مصنوعی می‌توان به راحتی و با هزینه نسبتا کم تولید می‌شود، ترکیب پلیمر زیستی (مانند صمغ قدومه شیرازی) و پلیمر مصنوعی (مانند PVA) ممکن است عملکرد هزینه فیلم نتیجه را بهبود بخشند.

معمولا فیلم‌های بیوپلیمر به شرایط محیطی بسیار حساس

در جهان حدود ۱۲۵ میلیون تن پلاستیک در سال تولید می‌شود که ۴۲ درصد از مصرف پلاستیک‌ها در صنعت بسته‌بندی و ۴۷ درصد آن به بسته‌بندی مواد غذایی مربوط می‌شود (Nkwachukwu et al., 2013). بسته بندی های پلاستیکی یا فیلم های سنتزی به دلیل خواص مکانیکی خوب و بازدارندگی مؤثر در برابر اکسیژن و رطوبت بطور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند. تقریباً همه این فیلم‌ها زیست تخریب‌پذیر نبوده، در نتیجه منجر به آلودگی محیط زیست و مسائل اکولوژیکی جدی می‌شوند (Marsh & Bugusu, 2007).

چالش و نگرانی اشاره شده، با پلیمرهای زیست تخریب پذیر مرتفع می‌گردد چرا که فرایند زیست تخریب‌پذیری در طبیعت انجام

۱، ۲ و ۳ - به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار ودانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
* - نویسنده مسئول (Email: yavarmanesh@um.ac.ir)

با توجه به موارد فوق، هدف از تحقیق اخیر تعیین مناسب‌ترین سطح گلیسرول در فیلم ترکیبی بر پایه صمغ قدومه شیرازی/ پلی‌وینیل الکل، به‌منظور تهیه فیلمی با ویژگی‌های مکانیکی، بازدارندگی و فیزیکی (حلالیت، جذب رطوبت و میزان رطوبت)، ظاهری و رنگی و مناسب می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

دانه قدومه شیرازی از فروشگاه گیاهان دارویی در مشهد، پلی‌وینیل الکل و گلیسرول از شرکت سیگمای آمریکا، کلرید کلسیم بدون آب، سولفات پتاسیم، نیترات کلسیم و هیدرواکسید سدیم از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. اسید کلریدریک نیز از شرکت شارلو خریداری شد.

استخراج صمغ

استخراج صمغ دانه قدومه شیرازی از دانه کامل و با استفاده از آب دیونیزه تحت شرایط بهینه استخراج در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد، pH معادل ۴ و نسبت آب به دانه ۴۰ به ۱ به مدت یک ساعت صورت گرفت (Koocheki et al., 2010). سپس صمغ استخراج شده توسط سه حجم الکل ۹۶ درصد رسوب داده شد. رسوبات بدست آمده از ناخالصی‌های دیگر جدا شد و پس از آبیگری کامل به مدت یک شبانه روز در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از آن توسط خشک‌کن انجمادی (Martin Christ Freeze Dryer, 1500w, 380v, 0.9 vacuum, German بصورت پودر خشک گردید. در انتها صمغ خشک شده آسیاب و پس از عبور از صافی، بسته‌بندی و در شرایط خشک و خنک نگهداری گردید (Koocheki et al., 2010).

آماده سازی فیلم

فیلم ترکیبی با ۱/۵ درصد ماده خشک کل و نسبت پلی‌وینیل الکل به صمغ ۶۰ به ۴۰ تهیه گردید. به‌منظور آماده‌سازی فیلم ابتدا صمغ با غلظت تعیین شده را در ۵۰ سی‌سی آب دیونیزه حل کرده و به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه توسط هات پلیت مجهز به همزن مغناطیسی (Heidolph MR3001K) در دمای محیط همگن شد. دیسپرسیون تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه قرار گرفت تا آبیگری کامل شود. پلی‌وینیل الکل با غلظت تعیین شده را نیز در ۲۵ سی‌سی آب دیونیزه حل کرده و به مدت یک ساعت با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به همگن شد. پس از توزین پلاستی سائیزر با غلظت‌های معین (۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ درصد وزنی/ وزنی)، محلول

هستند و بطور کلی مقاومت مکانیکی پایینی دارند (Kanatt et al., 2012) که در فرآیندهای بعدی ایجاد مشکل می‌کند و موجب می‌شود تا کاربردهای آنها محدود گردد. به‌منظور بهبود ویژگی‌های مکانیکی و تراوش‌پذیری فیلم‌های تک پلیمری، می‌توان بطور همزمان از ترکیب پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدها یا پلیمرهای سنتزی و طبیعی برای تهیه فیلم‌ها استفاده کرد.

جنس *Alyssum* شامل حدود ۱۷۰-۱۰۰ گونه از گیاهان گلدار در خانواده Cruciferae می‌باشد. این گیاه، بومی مصر، عربستان، عراق، ایران و پاکستان است. صمغ قدومه شیرازی حاوی ۸۵/۳۳ درصد کربوهیدرات، ۵/۳ درصد پروتئین، ۴ درصد رطوبت، ۰/۱۵ درصد خاکستر و فاقد چربی می‌باشد. ترکیب قندهای موجود در این صمغ عبارت است از رامنوز (۵/۰۴ درصد)، آرابینوز (۰/۵۳ درصد)، زایلوز (۲/۷۲ درصد)، مانوز (۳/۰۴ درصد)، گلوکز (۵/۷ درصد) و گالاتوز (۸۲/۹۷ درصد). این صمغ از لحاظ رئولوژیکی یک سیال شل‌شونده با برش با وزن مولکولی پائین ($10^5 \times 3/66$ Da)، ویسکوسیته ذاتی متوسط (۱۸/۳ dl/g) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و انرژی فعال‌سازی معادل 0.51×10^7 j/kgmol می‌باشد (Hesarinejad et al., 2015). صمغ قدومه شیرازی می‌تواند به‌عنوان یک جایگزین چربی در سیستم‌های امولسیون، ماده ژل‌دهنده و قوام‌دهنده و پایدارکننده در کاربردهای غذایی، دارویی و آرایشی مورد استفاده قرار گیرد (Koocheki et al., 2010; Koocheki et al., 2011).

پلی‌وینیل الکل پلیمری سنتزی، محلول در آب، با خاصیت تشکیل فیلم عالی، امولسیون‌کننده، و همچنین دارای خواص چسبندگی خوبی می‌باشد. علاوه بر ویژگی‌های ذکر شده آماده‌سازی آسان، مقاومت در برابر مواد شیمیایی، خواص مکانیکی خوب و قابلیت زیست تخریب‌پذیری، پلی‌وینیل الکل را به گزینه‌ای بسیار مناسب جهت استفاده با پلیمرهای طبیعی در فیلم‌های ترکیبی تبدیل کرده است (Srinivasa et al., 2003). به این ترتیب، پلی‌وینیل الکل به‌عنوان یک جزء در تولید فیلم‌های ترکیبی با پلیمرهای زیستی مانند کیتوزان (Kanatt et al., 2012)، نشاسته (Yang & Huang, 2008) و کربوکسی‌متیل سلولز (Gupta et al., 2013)، صمغ بادام هندی (Silva et al., 2016)، پالپ چقدر قند (Shen, 2014) (Ghasemlou, & Kamdem, 2014) مورد استفاده قرار گرفته است.

به‌منظور افزایش کارایی و انعطاف‌پذیری فیلم‌ها از پلاستی‌سایزرهای مختلف، معمولاً پلی‌اول‌ها، بطور گسترده‌ای استفاده می‌شود. گلیسرول یک پلاستی‌سایزر آبدوست است، و هنگامی که به مقدار صحیح و با توجه به میزان مواد جامد مورد استفاده، اضافه شود می‌تواند به کاهش نیروها مولکولی و افزایش تحرک زنجیر پلیمر کمک کند (Ghasemlou et al., 2011).

توزین شد و سپس در دسیکاتور حاوی محلول اشباع پتاسیم سولفات قرار گرفت و توزین مانند مرحله قبلی (تا رسیدن به وزن ثابت) انجام گردید. جذب رطوبت طبق رابطه زیر محاسبه شد:

$$(3) \quad \text{جذب رطوبت} = (M_2 - M_1) / M_1$$

M_2 : وزن فیلم بعد از رسیدن به وزن ثابت در محلول اشباع سولفات پتاسیم (گرم) و M_1 : وزن فیلم بعد از رسیدن به وزن ثابت در کلرید کلسیم بدون آب (گرم).

حلالیت

حلالیت در آب فیلم‌های خوراکی توسط روش Gontard و همکاران (۱۹۹۴) محاسبه شد. فیلم به ابعاد $2 \times 2 \text{ cm}^2$ بریده و در 10.5°C به مدت ۲۴ ساعت خشک و برای اندازه‌گیری ماده خشک اولیه وزن گردید. سپس قطعه دیگری با وزن برابر نمونه اولیه در 50 ml آب مقطر (25°C) به مدت ۲۴ ساعت غوطه‌ور و در شیکر مکانیکی (JANKE & KUNKEL KA-WERK) با دور ملایم به همزده شد. محلول توسط قیف بوختر بر روی کاغذ صافی تحت شرایط خلاء صاف و در 10.5°C به مدت ۲۴ ساعت خشک و به‌منظور تعیین ماده خشک نهایی توزین شد. حلالیت با استفاده از فرمول ذیل محاسبه گردید:

$$(4) \quad \text{حلالیت} = (DM_1 - DM_2) / DM_1$$

DM_1 : ماده خشک قطعه فیلم قبل از حلالیت در آب (گرم) و ماده خشک باقی‌مانده فیلم بعد از حلالیت در آب (گرم).

زاویه تماس

در این روش با استفاده از یک سمپلر، یک قطره آب مقطر 20 میکرولیتری بر سطح نمونه‌ها قرار داده شد و سریعاً توسط دوربین از زاویه تماس قطره با سطح فیلم عکس گرفته شد. برای محاسبه زاویه تماس آب با سطح فیلم‌ها از نرم افزار Image J استفاده گردید. محاسبه زاویه بین خط مماس بر قطره در نقطه تماس و خط رسم شده در راستای سطح فیلم، زاویه تماس را نشان می‌دهد (Motedayen et al., 2013).

نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

اندازه‌گیری میزان تراوش‌پذیری به بخار آب فیلم‌های خوراکی بر اساس استاندارد ASTM-E96-00 (ASTM, 2000) انجام شد. بعد از مشروط کردن فیلم‌ها به مدت ۳ روز توسط محلول اشباع نیترات کلسیم (چهار آبه) ضخامت فیلم در ۵ نقطه (۴ نقطه در اطراف و یک نقطه در مرکز فیلم)، اندازه‌گیری شد. فیلم تهیه شده بر روی ظرف‌های شیشه‌ای استوانه‌ای شکل حاوی 4 گرم کلرید کلسیم بدون آب توسط یک گیره بسته شد. سپس این ظرف‌ها در درون

پلی‌وینیل الکل خنک شده و صمغ به آن اضافه شد و به مدت 20 دقیقه در دمای $50-45^\circ \text{C}$ اختلاط ادامه یافت. محلول حاصل به مدت یک دقیقه توسط توراکس (IKA T25 digital ULTRA-) با دور 8000 rpm مخلوط گردید. محلول تا دمای اتاق سرد شد و به‌منظور خروج حباب‌های هوا به مدت 10 دقیقه با دور 7000 g سانتریفوژ گردید. سپس قالب‌گیری در پلیت‌های شیشه‌ای با قطر $14/5$ سانتی‌متر انجام شد. پلیت‌ها در آون با دمای 45°C به مدت $30-24$ ساعت قرار گرفت تا فیلم‌ها کاملاً خشک شوند. فیلم‌های سالم و بدون حباب برای ارزیابی ویژگی‌های فیلم انتخاب شدند.

ضخامت

ضخامت فیلم به‌وسیله میکرومتر دیجیتال (QLR digit-IP54, China) با دقت نزدیک به 0.0001 میلی‌متر در حداقل 10 نقطه تصادفی هر فیلم اندازه‌گیری شد.

دانسیته

فیلم به ابعاد $4 \times 4 \text{ cm}^2$ بریده شده و به مدت 3 روز در دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیترات کلسیم (با رطوبت نسبی 55 درصد) مشروط و سپس توزین شد. (Ramos et al., 2013) و دانسیته مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

$$(1) \quad \rho = \frac{m}{A \times \delta}$$

m وزن نمونه (گرم)، δ : میانگین ضخامت فیلم (سانتی‌متر)، A مساحت فیلم (سانتی‌متر مربع).

میزان رطوبت

برای اندازه‌گیری مقدار رطوبت از روش Muñoz و همکاران (۲۰۱۲) استفاده شد. حدود یک گرم از فیلم به مدت $2-3$ روز مشروط شد و پس از توزین، به مدت 24 ساعت در آون $103 \pm 2^\circ \text{C}$ قرار گرفت. نمونه‌ها پس از سرد شدن در دسیکاتور توزین شدند. میزان رطوبت به روش ذیل بدست آمد:

$$(2) \quad \text{میزان رطوبت} = (W_i - W_f) / W_f$$

W_i وزن بعد از مشروط شدن (گرم) و W_f : وزن بعد از آون‌گذاری (گرم).

جذب رطوبت

جذب رطوبت با استفاده از روش Angles & Dufresne (۲۰۰۰) محاسبه گردید. فیلم به ابعاد $2 \times 2 \text{ cm}^2$ تهیه و در دسیکاتور حاوی کلرید کلسیم بدون آب با رطوبت صفر در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. نمونه هر 24 ساعت یکبار (تا رسیدن به وزن ثابت)،

ویژگی‌های نوری

فیلم‌ها به ابعاد $۳\text{cm}^2 \times ۴/۷$ بریده شده و داخل سل اسپکتروفوتومتر (مدل Shimadzu UV-160A) قرار گرفتند. شاخص عبور نور در ۶۰۰ نانومتر (Han & Floros, 1997) و کدورت (Gontard & Guilbert, 1994) با روابط زیر محاسبه شدند:

$$T600 = -\log\%T/b \quad (۱۱)$$

$$\text{Opacity} = \text{absorbance at } 500 \text{ nm} \times \text{film thickness} \quad (۱۲)$$

$T\%$: درصد عبور نور و b : ضخامت فیلم (میلی‌متر)

طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

در ابتدا نمونه‌های فیلم ترکیبی تهیه شده با کمک نیتروژن مایع و با استفاده از یک هاون چینی به صورت پودر در آورده شد. نمونه پودر فیلم ترکیبی پلی‌وینیل الکل/ صمغ قدومه شیرازی با پودر پتاسیم بروماید (KBr) مخلوط شده و به شکل قرص در محفظه کوچک قرار گرفت. طیف سنجی مادون قرمز با دستگاه AVATAR 370 FT-IR Thermo Nicolet Japan و در دامنه $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ انجام شد.

مطالعه ریزساختار با استفاده از میکروسکوپ الکترونی

ریزساختار سطح و مقطع عرضی فیلم‌های خشک شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل (LEO 1450 VP) مشخص گردید. پوشش‌های پالادیوم-طلا با استفاده از اسکاتر کوتیر مدل (SC7620، ساخت انگلیس) بر روی نمونه پوشش داده شد. سپس تحت شرایط خلاء و ولتاژ 20kV از سطح و مقطع عرضی نمونه تصویربرداری شد (Sun et al., 2013).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در بخش‌های مختلف تحقیق تمامی آزمون‌ها حداقل در سه تکرار انجام شدند. تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. میانگین‌ها در سطح احتمال خطای 5% درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

نتایج

ضخامت و دانسیته

ضخامت فیلم روی ویژگی‌های ممانعتی، مکانیکی و همچنین شفافیت فیلم موثر است (Kurt et al., 2014). افزایش غلظت کلیسرول باعث افزایش ($P < 0.05$) ضخامت فیلم ترکیبی صمغ دانه قدومه شیرازی- پلی وینیل الکل شد (جدول ۱) بطوریکه با افزایش

دسیکاتور حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم با رطوبت 97% در صد قرار گرفت و در طی 12 ساعت اول هر 2 ساعت یکبار و بعد از آن هر 24 ساعت یکبار با ترازو با دقت 0.001 (AND GF600) به مدت 72 ساعت توزین شد. نمودار افزایش وزن ظرف به صورت تابعی از زمان رسم شد و شیب خط در قسمت خطی محاسبه گردید. نرخ عبور بخار آب و تراوش پذیری به بخار آب مطابق روش ذیل محاسبه شد:

$$WVTR = \frac{\text{Slope}}{A} = \frac{\Delta m}{\Delta t \times A} \quad (۵)$$

$WVTR$: نرخ عبور بخار آب، Slope: شیب تغییرات وزنی نسبت به تغییرات زمان (گرم/ساعت)، Δm : تغییرات وزنی (گرم)، Δt : تغییرات زمانی (ساعت) و A : مساحت دهانه ظرف (مترمربع).

$$WVP = \frac{WVTR \times X}{\Delta P \times (R_1 - R_2)} \quad (۶)$$

WVP : تراوش پذیری به بخار آب (گرم. میلی‌متر بر مترمربع. روز. کیلوپاسکال)، X : ضخامت فیلم (میلی‌متر)، ΔP : اختلاف فشار بخار بین داخل و خارج ظرف شیشه‌ای (کیلو پاسکال)، R_1 : رطوبت نسبی موجود در محیط داخلی دسیکاتور، R_2 : رطوبت نسبی موجود در ظرف شیشه‌ای.

ویژگی‌های مکانیکی فیلم

این ویژگی‌ها بر اساس استاندارد ASTM-882-02 و با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (TA-Plus, England) محاسبه شد (ASTM, 2002). ابتدا فیلم به ابعاد $14 \times 1 \text{ cm}^2$ بریده شد و ضخامت در 10 نقطه محاسبه گردید. فیلم به مدت 3 روز در دسیکاتور حاوی محلول نیترات کلسیم با رطوبت 55% مشروط شد و سپس بین دو فک دستگاه بافت‌سنج با فاصله‌ی اولیه 100 mm و سرعت حرکت فک $12/5 \text{ mm/min}$ قرار داده شد و ویژگی‌های مکانیکی محاسبه شد.

آزمون رنگ‌سنجی^۱

برای اندازه‌گیری رنگ از روش Gennadios و همکاران (۱۹۹۶) و از دستگاه هانتربل (color selex, USA) استفاده شد. پارامترهای رنگ نیز بر اساس روابط زیر محاسبه شد:

$$\Delta E_{ab}^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5} \quad (۷)$$

$$C = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0.5} \quad (۸)$$

$$YI = 142.86b/L \quad (۹)$$

$$WI = 100 - [(100-L)^2 + a^2 + b^2]^{0.5} \quad (۱۰)$$

گزارش شد.

با افزایش غلظت گلیسرول مقدار دانسیته بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش پیدا کرد (جدول ۱). درست است که گلیسرول به دلیل دارا بودن خصوصیات آبدوستی بالا با تعداد زیادی از مولکول‌های آب پیوند هیدروژنی برقرار کرده و باعث افزایش ضخامت و در نتیجه افزایش حجم فیلم می‌شود (حجم و دانسیته نسبت عکس دارند)، اما باید در نظر گرفت که وزن نمونه‌ها بر اثر افزایش میزان گلیسرول و افزایش میزان رطوبت موجود در فیلم به همان نسبت افزایش پیدا می‌کند. بدلیل اینکه نرخ افزایش وزن بیش از افزایش ضخامت می‌باشد، بنابراین، با افزایش غلظت گلیسرول، دانسیته نمونه‌ها افزایش پیدا خواهد کرد. نتایج مشابهی نیز توسط Müller و همکاران (۲۰۰۸) و Ramos و همکاران (۲۰۱۳) به ترتیب بر روی فیلم‌های تهیه شده از نشاسته کاساوا و کنسانتره پروتئین آب پنبه گزارش شد.

محتوای گلیسرول، مقدار ضخامت از ۰/۰۶۵ به ۰/۱۴۲ میلی‌متر افزایش یافت ($P < 0.05$). جوکی و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثر گلیسرول بر ضخامت فیلم تهیه شده از صمغ دانه به و فیلم دانه شاهی بیان کردند که میزان رطوبت جذب شده توسط فیلم با افزایش غلظت گلیسرول افزایش یافته که باعث متورم شدن فیلم و به دنبال آن افزایش ضخامت فیلم خواهد گردید. از طرف دیگر رضوی و همکاران (۲۰۱۵) افزایش ضخامت فیلم صمغ دانه مرو را نتیجه عملکرد مولکول‌های پلاستی‌سایزر در برهم‌زدن پیوندهای بین مولکولی زنجیره‌های پلیمر دانستند، بطوری که بازسازی ساختمان پلیمرها منجر به گسترش بیشتر ساختار با افزایش حجم و در نتیجه تولید فیلم‌هایی با ضخامت‌های بالاتر گردید. نتایج مشابهی نیز در فیلم‌های تهیه شده از کفیران (Ghasemlou *et al.*, 2011)، صمغ دانه اسفرزه (Ahmadi *et al.*, 2012)، صمغ دانه ریحان (Khazaei *et al.*, 2014) و صمغ قدومه شهری (Seyedi *et al.*, 2014)

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی فیلم ترکیبی صمغ قدومه شیرازی- پلی وینیل الکل با نسبت‌های مختلف گلیسرول

درصد گلیسرول	ضخامت (میلی متر)	دانسیته (گرم بر سانتی متر مکعب)	رطوبت (%)	حلالیت (%)	جذب رطوبت (%)
۲۰	۰/۰۶۵±۰/۰۰۴ ^a	۰/۱۰۹±۰/۰۰۹ ^a	۲۲/۵±۰/۴ ^e	۱۶/۶±۰/۳ ^a	۱۱۸/۷۶±۱/۵ ^a
۳۰	۰/۰۹۵±۰/۰۰۴ ^b	۰/۱۱۸±۰/۰۰۴ ^{ab}	۳۳/۶±۰/۹ ^d	۲۸/۹۲±۱/۱ ^b	۱۲۱/۲±۲/۰۴ ^{ab}
۴۰	۰/۰۹۹±۰/۰۰۱ ^b	۰/۱۱۴±۰/۰۰۸ ^{ab}	۳۵/۹±۱/۳ ^c	۲۹/۳۲±۰/۸ ^b	۱۲۳/۳±۱/۳ ^b
۵۰	۰/۱۰۷±۰/۰۰۷ ^b	۰/۱۲±۰/۰۱۳ ^{ab}	۳۷/۵±۰/۳ ^{bc}	۲۹/۴۱±۰/۳ ^b	۱۳۱/۱±۱/۳ ^c
۶۰	۰/۱۲۷±۰/۰۰۴ ^c	۰/۱۱۸±۰/۰۰۵ ^{ab}	۳۸/۱±۱/۱۳ ^b	۴۱/۳۶±۱/۵ ^c	۱۳۸/۸±۱/۸ ^d
۷۰	۰/۱۴۲±۰/۰۰۹ ^d	۰/۱۲۶±۰/۰۰۸ ^b	۴۰/۹±۱/۶ ^a	۵۱/۰۲±۱/۰۳ ^d	۱۵۲/۶±۱/۳ ^e

میزان رطوبت

میزان رطوبت پارامتری است که به کل حجم خالی اشغال شده توسط مولکول‌های آب در میکروساختار فیلم بستگی دارد (Li *et al.*, 2011). میزان رطوبت فیلم‌های ترکیبی پلی وینیل الکل / صمغ قدومه شیرازی در جدول ۱ مشاهده می‌شود. نتایج نشان داد با افزایش غلظت گلیسرول از ۲۰ به ۷۰ درصد (وزنی / وزنی) میزان رطوبت فیلم‌ها بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) از ۲۲/۵ به ۴۰/۹ درصد افزایش می‌یابد. گلیسرول به دلیل داشتن خاصیت آبدوستی بالا و اندازه کوچک وارد فضای خالی بین زنجیره‌ای پلیمر می‌شود و برهمکنش هیدروژنی گلیسرول- پلیمری گلیسرول- آب ایجاد می‌کند (Jouki *et al.*, 2013a). بنابراین، با افزایش غلظت گلیسرول، میزان رطوبت فیلم افزایش پیدا کرد. نتایج مشابهی نیز بر روی تاثیر پلاستی‌سایزرها روی میزان رطوبت فیلم‌های خوراکی هیدروکلوتیدی گزارش شده است (Ahmadi *et al.*, 2012; Ebrahimi *et al.*, 2016; Ghasemlou *et al.*, 2011; Piermaria *et al.*, 2011; Seyedi *et al.*, 2014; Thakhiew *et al.*, 2010). نتایج تحقیق رضوی و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که با افزایش غلظت گلیسرول در فیلم تهیه شده از صمغ دانه مرو،

میزان رطوبت فیلم افزایش می‌یابد. علت این امر به ظرفیت بالای نگهداری آب توسط گلیسرول نسبت داده شد.

جذب رطوبت

میزان جذب رطوبت در فیلم‌ها برای پیش‌بینی پایداری و تغییرات کیفی فیلم طی بسته‌بندی محصولات غذایی اهمیت دارد (Abugoch *et al.*, 2011). افزایش غلظت گلیسرول از ۲۰ تا ۷۰ درصد (وزنی / وزنی) باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) در میزان جذب رطوبت فیلم‌ها از ۱۱۸/۷۶ تا ۱۵۲/۶ درصد شد (جدول ۱). مولکول‌های گلیسرول به علت داشتن اندازه کوچک می‌توانند به راحتی بین زنجیره‌های پلیمر قرار بگیرند. آنها توانایی کاهش برهمکنش‌های پلیمر- پلیمر و ایجاد پیوند پلیمر- گلیسرول را دارند. در غلظت‌های بالای پلاستی‌سایزر، دنباله‌های غنی از گلیسرول در ماتریکس پلیمر ایجاد می‌شوند (Sothornvit, & Krochta, 2005). از طرف دیگر، گلیسرول خاصیت آبدوستی بالایی دارد، بنابراین ممکن است نفوذ رطوبت به فیلم پلی‌وینیل الکل / صمغ قدومه شیرازی را تسریع کند (Mali *et al.*, 2005). در طی

غذایی به حداقل رساندن انتقال رطوبت بین غذا و اتمسفر اطراف می‌باشد، بنابراین نفوذپذیری مواد بسته‌بندی به بخار آب باید حداقل باشد (Zhou *et al.*, 2009).

با افزایش غلظت گلیسرول، WVP و WVTR برای تمام نسبت‌های مختلف گلیسرول فیلم ترکیبی افزایش ($P < 0.05$) پیدا کرد (جدول ۲). گلیسرول دمای انتقال شیشه‌ای پایینی (۲۲- تا ۴۴-) دارد بنابراین با اضافه شدن به پلیمر سبب کاهش دمای انتقال شیشه‌ای فیلم حاصل گردیده، فضای آزاد و تحرک زنجیره‌های پلیمر را افزایش (دمای انتقال شیشه‌ای پایین) و بنابراین به مولکول‌های بخار آب اجازه نفوذ بیشتری به ساختارشان را داده است. گلیسرول به دلیل داشتن اندازه کوچک به آسانی در ساختار فیلم نفوذ می‌کند و نیروهای قوی بین زنجیره‌های پلیمر را تضعیف کرده و از طریق ایجاد پیوند هیدروژنی پلیمر-پلاستی سایزر باعث افزایش حجم آزاد بین زنجیره‌های پلیمرها و تحرک زنجیره‌ها می‌گردد. تحرک بیشتر که در اثر افزایش حجم ایجاد شده است مهاجرت مولکول‌های آب در عرض فیلم را افزایش می‌دهد (Jia *et al.*, 2009; Sothornvit, 2001 & Krochta). گلیسرول به دلیل طبیعت آبدوستی بالا با مقدار زیادی از مولکول‌های آب پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند که باعث افزایش WVP می‌گردد (Gontard *et al.*, 1993). بدلیل خوشه‌ای شدن گلیسرول در غلظت‌های بالاتر باز شدن زنجیره‌های پلیمر و تراوش پذیری به رطوبت افزایش می‌یابد (Khazaei *et al.*, 2014). نتایج مشابهی در فیلم‌های تهیه شده از صمغ دانه به (Jouki *et al.*, 2013b)، صمغ تارا (Antonioni *et al.*, 2014) و آلزینات (Jost *et al.*, 2014) بدست آمده است. بر اساس نتایج این تحقیقات گلیسرول باعث کاهش برهمکنش بین زنجیره‌های پلیمر، ایجاد برهمکنش هیدروژنی پلیمر-پلاستی سایزر، افزایش حجم آزاد فیلم و افزایش WVP می‌شود

زاویه تماس

اندازه‌گیری زاویه تماس قطره آب با سطح فیلم، شاخصی مناسب برای تعیین میزان آبدوستی سطحی فیلم می‌باشد (Motedayen *et al.*, 2013). فیلم‌هایی با آبدوستی $90^\circ - 30^\circ$ آبدوست نسبی می‌باشند (Ghanbarzadeh *et al.*, 2007). بر اساس داده‌های جدول ۲، با افزایش غلظت گلیسرول از ۲۰ به ۷۰ درصد (وزنی/وزنی) زاویه تماس فیلم‌ها بطور معنی‌داری از 74.5° به 42.52° کاهش یافت ($P < 0.05$). گلیسرول به دلیل طبیعت بسیار آبدوست باعث افزایش سطح تماس قطره با فیلم و کاهش آبگریزی سطحی می‌گردد (Jouki *et al.*, 2013a). نتایج مشابهی نیز روی کاهش زاویه تماس فیلم‌های هیدروکلوتیدی با افزایش پلاستی‌سایزر نیز

هیدراسیون فیلم، مولکول‌های آب اضافه شده باعث افزایش پیوندهای هیدروژنی پلیمر-آب، کاهش برهمکنش‌های بین زنجیره‌ای و افزایش تحرک زنجیره‌ها می‌شوند. نتایج تحقیق Seyedi و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان داد که در فیلم‌های بر پایه صمغ قدومه شهری افزایش گلیسرول از ۴۰ تا ۵۰ درصد تغییر چندانی بر جذب رطوبت نداشت، اما در غلظت‌های بالاتر جذب رطوبت فیلم‌ها بطور محسوسی افزایش یافت.

حلالیت

حلالیت یکی از مهم‌ترین ویژگی فیلم‌ها برای بسته‌بندی مواد غذایی است. آزمون حلالیت، میزان مقاومت فیلم برای حفظ یکپارچگی ساختار آن در محیط آبی را نشان می‌دهد. حلالیت فیلم به میزان گروه‌های هیدروکسیل و سایر گروه‌های آبدوست آزاد در ماتریس پلیمری بستگی دارد که منجر به ایجاد تعاملات هیدروژنی بین فیلم و آب می‌شود (Mchugh *et al.*, 1994). هنگامی که فیلم به‌عنوان ماده بسته‌بندی مورد استفاده قرار می‌گیرد، باید مقاومت بالایی نسبت به آب (یا حلالیت پایینی) داشته باشد (Arismendi *et al.*, 2013).

افزایش غلظت گلیسرول باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) در حلالیت فیلم شد (جدول ۱). حلالیت فیلم‌های ترکیبی پلی‌وینیل الکل / صمغ قدومه شیرازی با افزایش میزان گلیسرول از ۲۰ به ۷۰ درصد (وزنی/وزنی) از $16/6$ به $51/02$ درصد رسید که این رفتار می‌تواند به دلیل خاصیت آبدوستی بالای گلیسرول باشد. گلیسرول تمایل مولکول‌های پلی‌مر برای جذب آب را افزایش داده و با تضعیف ساختار فیلم متورم شده در محیط آبی حلالیت را افزایش می‌دهد (Ahmadi *et al.*, 2012; Ghasemlou *et al.*, 2011; Piermaria *et al.*, 2009; Razavi *et al.*, 2015; da Silva *et al.*, 2009). رضوی و همکاران (۲۰۱۵)، جوکی و همکاران (۲۰۱۳b) و خزائی و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی اثر گلیسرول بر فیلم‌های حاصل از صمغ دانه مرو و صمغ دانه شاهی به ترتیب به نتایج مشابهی دست یافتند. نامبردگان گزارش کردند که گلیسرول، با کاهش برهمکنش‌های بین مولکول‌های پلیمر و همچنین به علت خاصیت آبدوستی، باعث افزایش حلالیت این فیلم‌ها می‌شود.

نفوذپذیری به بخار آب

نفوذپذیری فیلم به بخار آب تحت تاثیر عوامل متعددی مانند تحرک زنجیره‌های پلیمر، برهمکنش بین گروه‌های عملگرای پلیمرها، یکپارچگی ساختار فیلم، نسبت گروه‌های آبدوست به آبگریز و نسبت ناحیه کریستالی به آمورف می‌باشد (Ghanbarzadeh *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2013; Souza *et al.*, 2010). چون یکی از مهمترین کاربردهای بسته‌بندی در مواد

برهمکنش بین آنها و همچنین روش‌های فرآوری بستگی دارد (Tian *et al.*, 2011). معمولا فیلمی از نظر مکانیکی مطلوب است که نسبت به کشش مقاوم بوده، میزان کش آمدگی و انعطاف پذیری آن بالا بوده و ترد و شکننده نباشد (رضایی تقی‌آبادی و همکاران، ۱۳۹۱).

گزارش شده است (Ghasemlou *et al.*, Ahmadi *et al.*, 2012) Suyatma *et al.*, Jouki *et al.*, 2013b Seyedi *et al.*, 2014 2011 *al.*, 2005). این محققین علت این امر را طبیعت آبدوست گلیسرول اعلام کردند.

ویژگی‌های مکانیکی

ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها به طبیعت مواد تشکیل دهنده فیلم،

جدول ۲- نفوذ پذیری به بخار آب و زاویه تماس فیلم ترکیبی صمغ قدومه شیرازی- پلی وینیل الکل با نسبت‌های مختلف گلیسرول

درصد گلیسرول	زاویه تماس (درجه)	نفوذ پذیری به بخار آب (g mm/m ² kPa d)	سرعت نفوذ بخار آب (g/m ² d)
۲۰	۷۴/۵۲±۱/۵ ^a	۴/۹±۰/۰۰۷ ^a	۱۵۲/۸۶±۰/۴ ^a
۳۰	۷۰/۷±۲/۰ ^b	۷/۰۰۶±۰/۰۰۱ ^b	۱۸۳/۴±۰/۱۹ ^b
۴۰	۶۹/۴۲±۱/۷۵ ^b	۸/۵۷±۰/۰۰۵ ^d	۲۲۱/۰۶±۰/۴ ^d
۵۰	۶۱/۷۳±۰/۹۴ ^b	۷/۹۷±۰/۰۱ ^c	۲۱۱/۶۶±۰/۷۸ ^c
۶۰	۴۲/۵۲±۱/۳ ^c	۱۱/۸۳±۰/۰۱ ^e	۲۷۰/۴۵±۰/۳ ^e
۷۰	۳۷/۸±۰/۸۹ ^d	۲۳/۰۷±۰/۰۱۵ ^f	۳۰۱/۰۲±۰/۳۱ ^f

دگرگون می‌کند که تحرک پلیمرها در ماتریکس فیلم افزایش یابد. این امر باعث افزایش انعطاف پذیری و میزان کش آمدگی و کاهش مقاومت مکانیکی فیلم می‌گردد (Haq *et al.*, 2014; Razavi *et al.*, 2015; Su *et al.*, 2010). نتایج مشابهی نیز برای فیلم‌های بر پایه صمغ دانه اسفرزه (Ahmadi *et al.*, 2012)، صمغ تارا (Antoniou *et al.*, 2014)، صمغ کوردیا (Haq *et al.*, 2014)، صمغ دانه به (Jouki *et al.*, 2013b)، صمغ دانه قدومه شهری (Seyedi *et al.*, 2014) و آلزینات (Jost *et al.*, 2014) گزارش شده است. علاوه بر این مولکول‌های گلیسرول از طریق کاهش دمای انتقال شیشه‌ای فیلم حاصل، سبب افزایش تحرک مولکول‌های پلیمر در فیلم شده و ساختار نرم‌تری را تولید کرده و بنابراین سبب کاهش مقاومت به کشش و افزایش کش آمدگی فیلم شدند.

مقدار مقاومت به کشش (TS)، مدول یانگ (YM) و درصد کشش (E%) فیلم‌های ترکیبی پلی وینیل الکل / صمغ قدومه شیرازی با غلظت‌های مختلف گلیسرول در جدول ۳ نشان داده شده است. با افزایش غلظت گلیسرول از ۲۰ تا ۷۰ درصد (وزنی/وزنی) مقاومت نسبت به کشش و مدول یانگ کاهش (به ترتیب از ۶۴/۶ به ۱۰/۰۱ و ۸۹۲ به ۱۴۹ مگا پاسکال) و میزان کش آمدگی فیلم (از ۲/۱ به ۲۵۴/۴۸ درصد) افزایش پیدا کرد ($P < 0.05$). تاثیر گلیسرول به عنوان پلاستی‌سایزر بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم را می‌توان این گونه بیان کرد که گلیسرول به دلیل داشتن اندازه کوچک و گروه‌های هیدروکسیل بالا (قطبیت بالا) وارد فضای بین زنجیره‌ای پلیمرها شده، نیروهای بین مولکولی را کاهش داده و با تشکیل پیوندهای هیدروژنی ساختار پلی‌مرهای موجود در فیلم را بگونه‌ای

جدول ۳- ویژگی‌های مکانیکی فیلم ترکیبی صمغ قدومه شیرازی- پلی وینیل الکل با نسبت‌های مختلف گلیسرول

درصد گلیسرول	میزان کش آمدگی (%)	مقاومت به کشش (مگا پاسکال)	مدول یانگ (مگا پاسکال)
۲۰	۲/۱±۰/۰۰۴ ^a	۶۴/۶±۰/۸۷ ^a	۸۹۲±۱۰/۳۹ ^a
۳۰	۲/۶±۰/۰۰۴ ^b	۳۷/۱±۱/۰۴ ^b	۶۹۲/۴±۱۵/۰۴ ^b
۴۰	۱۰±۰/۰۱ ^b	۱۷/۱۷±۰/۶۸ ^c	۴۰۰/۰۳±۹/۹۸ ^c
۵۰	۱۵/۴۷±۰/۰۰۷ ^b	۱۳/۲±۰/۳۳ ^d	۱۵۶/۸۵±۱۲/۱ ^d
۶۰	۱۱۴/۰۲±۰/۰۰۴ ^c	۱۰/۸±۰/۹۵ ^e	۸۴/۳۱±۱۷/۱۵ ^e
۷۰	۲۵۴/۸±۰/۰۰۹ ^d	۲/۰۹±۰/۸ ^f	۱/۴۹±۰/۱۱ ^f

نمونه‌ها با پلیت سفید، WI (اندیس سفیدی)، C (غلظت رنگ) و YI (اندیس زردی) را نشان می‌دهد. بطور کلی با افزایش میزان گلیسرول پارامترهای L^* و b^* افزایش و فاکتور a^* کاهش یافت. با افزایش میزان گلیسرول از ۲۰ تا ۷۰ درصد (وزنی/وزنی) میزان پارامتر L^* ، a^* افزایش پیدا کرد. Ramos و همکاران (۲۰۱۳)

رنگ

یکی دیگر از ویژگی‌های مهم فیلم رنگ است چرا که بطور مستقیم بر ظاهر و پذیرش محصول از طرف مصرف کننده اثر می‌گذارد (Ramos *et al.*, 2013). جدول ۴ پارامترهای L^* (روشنایی)، a^* (سبز-قرمز) و b^* (آبی-زرد)، ΔE (اختلاف رنگ

نتایج مشابهی برای فیلم‌های بر پایه صمغ دانه اسفرزه (Ahmadi *et al.*, 2012)، دانه به و شاهی (Jouki *et al.*, 2013a,b)، دانه ریحان (Khazaei *et al.*, 2014) و دانه قدومه شهری (Seyedi *et al.*, 2014) بدست آمد.

همچنین با افزایش میزان گلیسرول درجه زردی (YI) و اشباعیت رنگ (C) نمونه‌ها نیز افزایش یافت. نتایج مشابهی نیز برای فیلم‌های صمغ قدومه شهری (Seyedi *et al.*, 2014) و صمغ دانه اسفرزه (Ahmadi *et al.*, 2012) بدست آمد.

نتیجه مشابهی را در مورد فیلم پروتئین آب پنیر گزارش کردند و دلیل این امر را افزایش انعکاس نور از سطح فیلم در نتیجه افزایش میزان گلیسرول بیان کردند.

با اندازه‌گیری ΔE تفاوت رنگی نمونه‌ها مشخص می‌شود چرا که در محاسبه این اندیس از مقدار هر سه پارامتر رنگ (L^* ، a^* و b^*) استفاده می‌شود. گلیسرول یک ترکیب بی‌رنگ است، با افزایش میزان گلیسرول، اجزاء فیلم (صمغ و پلی‌وینیل الکل) رقیق شده و در نتیجه اختلاف رنگ نمونه‌ها با نمونه استاندارد کاهش یافت. درجه سفیدی (WI) نمونه‌ها نیز با افزایش میزان گلیسرول افزایش یافت.

جدول ۴- ویژگی‌های رنگی فیلم ترکیبی صمغ قدومه شیرازی- پلی وینیل الکل با نسبت‌های مختلف گلیسرول

درصد گلیسرول	L^*	a^*	b^*	ΔE	C	WI	YI
۲۰	۹۰±۰/۰۰۴ ^f	۰/۹±۰/۰۰۹ ^a	۰/۵±۰/۰۰۵ ^f	۵/۰۴±۰/۰۰۳ ^a	۱/۰۲±۰/۰۰۱ ^f	۸۹/۹۴±۰/۰۰۳ ^f	۰/۷۹±۰/۰۰۸ ^e
۳۰	۹۱/۱۸±۰/۰۰۴ ^e	۰/۷۹±۰/۰۰۴ ^b	۰/۹۲±۰/۰۰۶ ^e	۳/۹±۰/۰۰۲ ^b	۱/۲۱±۰/۰۰۷ ^e	۹۱/۰۹±۰/۰۰۳ ^e	۱/۴۴±۰/۰۰۹ ^d
۴۰	۹۲/۵±۰/۰۰۱ ^d	۰/۷۴±۰/۰۰۸ ^c	۱/۰۱±۰/۰۰۲ ^d	۲/۶±۰/۰۰۸ ^c	۱/۲۵±۰/۰۰۶ ^d	۹۲/۳۹±۰/۰۰۹ ^d	۱/۵۶±۰/۰۰۳ ^c
۵۰	۹۳/۷۴±۰/۰۰۷ ^c	۰/۶۸±۰/۰۰۱۳ ^d	۱/۰۲۵±۰/۰۰۸ ^c	۱/۵۲±۰/۰۰۲ ^d	۱/۲۳±۰/۰۰۱ ^c	۹۳/۶۲±۰/۰۰۴ ^c	۱/۵۶±۰/۰۰۱۳ ^c
۶۰	۹۳/۸۹±۰/۰۰۴ ^b	۰/۶۸±۰/۰۰۵ ^d	۱/۱۳۴±۰/۰۰۷ ^b	۱/۴۶±۰/۰۰۳ ^c	۱/۳۱±۰/۰۰۸ ^b	۹۳/۷۴±۰/۰۰۲ ^b	۱/۷۲±۰/۰۰۱ ^b
۷۰	۹۴/۴±۰/۰۰۹ ^a	۰/۵±۰/۰۰۸ ^e	۱/۳±۰/۰۰۵ ^a	۱/۲۷±۰/۰۰۳ ^f	۱/۳۹±۰/۰۰۷ ^a	۹۴/۲۲±۰/۰۰۷ ^a	۱/۹۶±۰/۰۰۷ ^a

دیگر، مواد بسته‌بندی باید محصولات غذایی را از اثرات مخرب نور، مخصوصاً اشعه فرابنفش محافظت کنند (Kowalczyk, & Baraniak, 2011).

با افزایش گلیسرول از ۲۰ به ۷۰ درصد، شفافیت فیلم‌های ترکیبی بطور معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) از ۲۴/۳۶ به ۵۸/۳۵ افزایش و کدورت از ۰/۶۹ به ۰/۳۱ کاهش پیدا کرد (جدول ۵).

ویژگی‌های نوری

شاخص کدورت مقدار نور جذب شده توسط ماده بسته‌بندی را نشان می‌دهد (Abdollahi *et al.*, 2013; Saurabh *et al.*, 2013). بطور کلی شفافیت و کدورت با هم نسبت عکس دارند. بنابراین مقادیر بالای شفافیت نشان‌دهنده کدورت پایین است. شفافیت مواد بسته‌بندی در بسته‌بندی مواد غذایی، یک مزیت بشمار می‌آید چرا که روی جذابیت برای خریدار تاثیرگذار است. از طرف

جدول ۵- ویژگی‌های نوری فیلم ترکیبی صمغ قدومه شیرازی- پلی وینیل الکل با نسبت‌های مختلف گلیسرول

درصد گلیسرول	شفافیت	درصد عبور نور در ۵۰۰ نانومتر	کدورت (A/mm)
۲۰	۲۴/۳۶±۱/۰ ^c	۹/۴۳±۰/۰۰۹ ^a	۰/۰۶۹±۰/۰۰۴ ^d
۳۰	۲۵/۵±۳/۰ ^c	۶/۲۲±۰/۰۲۸ ^b	۰/۰۵۸±۰/۰۰۱ ^c
۴۰	۳۵/۰۳±۱/۵ ^b	۴/۶۵±۰/۰۰۲ ^c	۰/۰۵۵±۰/۰۰۶ ^c
۵۰	۳۵/۴±۲/۲۷ ^b	۴/۱۹±۰/۰۰۳ ^c	۰/۰۴±۰/۰۰۱ ^{ab}
۶۰	۳۷/۰۶±۲/۷۴ ^b	۳/۳۸±۰/۰۴۸ ^d	۰/۰۴۴±۰/۰۰۵ ^b
۷۰	۵۸/۳۵±۴/۲ ^a	۱/۶۴±۰/۰۳۵ ^e	۰/۰۳۳±۰/۰۰۳ ^a

باعث کاهش مقدار نور جذب شده توسط ذرات پلمر شده و به دنبال آن کدورت نیز کاهش پیدا می‌کند. نتایج مشابهی نیز در فیلم‌هایی بر پایه آلئید کربوکسی متیل سلولوز- ژلاتین (Mu *et al.*, 2012)،

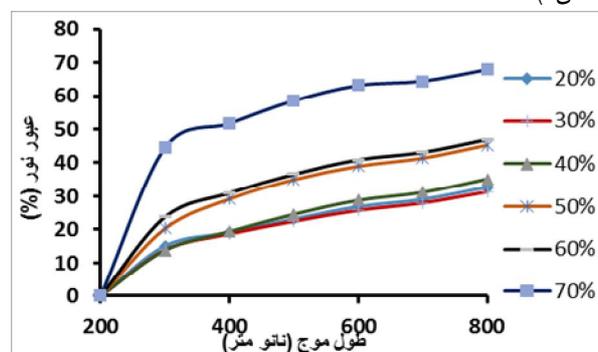
گلیسرول به علت داشتن اندازه کوچک وارد فضای بین زنجیره‌های پلیمر شده و نیروهای بین زنجیره‌ها را تضعیف کرده و باعث افزایش فضای بین زنجیره‌ها می‌شود. بنابراین، این امر احتمالاً

در مخلوط با هم پیوند شیمیایی برقرار کرده که تغییرات در ساختار را می‌توان در ویژگی پیک‌های ظاهر شده مشاهده کرد. شکل ۱ طیف مادون قرمز فیلم‌های ترکیبی پلی‌وینیل الکل / صمغ قدومه شیرازی که حاوی ۲۰ تا ۷۰ درصد گلیسرول می‌باشند را نشان می‌دهد. با مقایسه طیف‌های موجود، زمانی که غلظت گلیسرول افزایش می‌یابد تغییراتی در پیک‌های فیلم ایجاد می‌شود. نواحی مشخص طیف مادون قرمز فیلم ترکیبی پلی‌وینیل الکل - صمغ قدومه شیرازی شامل پیک پهن در ناحیه $3100-3500 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی گروه هیدروکسیل صمغ قدومه شیرازی، پلی‌وینیل الکل و آب (Synytsya *et al.*, 2003) و پهنای باند $2800-3000 \text{ cm}^{-1}$ که مربوط به ارتعاش کششی C-H می‌باشد (Yuen *et al.*, 2009). با افزایش غلظت گلیسرول از ۲۰ به ۷۰ درصد (وزنی / وزنی)، شدت پیک موجود در پهنای باند $3300-3500 \text{ cm}^{-1}$ افزایش یافت. این تغییر را می‌توان به افزایش گروه‌های هیدروکسیل آزاد و درگیر موجود در ترکیب (صمغ، پلی‌وینیل الکل و گلیسرول) و همچنین به جذب آب بیشتر توسط این فیلم‌ها نسبت داد (Haq *et al.*, 2014). در همین ناحیه، با افزایش غلظت گلیسرول عدد موجی بیشترین شدت جذب از عدد موج 3369 cm^{-1} به 3399 cm^{-1} انتقال پیدا کرد. این امر نشان‌دهنده تغییر در ماهیت پیوندهای هیدروژنی موجود در فیلم بود. در غلظت‌های بالاتر پیک‌های نامتقارن در عدد موج‌های بالاتر هم دیده شد. بطور کلی سه نوع پیوند هیدروژنی در ترکیب فیلم وجود دارد که شامل پیوندهای بین گروه‌های هیدروکسیل پلیمر، گروه‌های هیدروکسیل پلی‌مر و هیدروکسیل گلیسرول و گروه‌های هیدروکسیل گلیسرول است. تنوع در این پیوندها انرژی‌های متفاوت به همراه دارد. در غلظت پائین گلیسرول همه گروه‌های هیدروکسیل پلیمر با گروه‌های هیدروکسیل مولکول‌های گلیسرول پیوند برقرار می‌کنند. بنابراین برهمکنش‌های پلی‌مر-پلیمر به برهمکنش پلیمر-پلاستی‌سایزر تبدیل می‌گردد. این را اثر حالیت^۱ پلاستی‌سایزر می‌نامند (Fabra *et al.*, 2010). به هر حال با افزایش میزان گلیسرول گروه‌های هیدروکسیل آزاد در گلیسرول افزایش یافته که همین امر سبب انتقال پیک به طول موج بالاتر می‌گردد.

ریزساختار

ریزساختار فیلم می‌تواند اطلاعات مفیدی در مورد ارتباط بین ساختار با برخی از ویژگی‌های فیلم (مانند نفوذپذیری به بخار آب، ویژگی‌های مکانیکی و ویژگی‌های ظاهری) در اختیار قرار دهد (Jouki *et al.*, 2013b). شکل ۳ سطح مقطع و ریزساختار سطحی نمونه‌هایی با درصد‌های مختلف گلیسرول را نشان می‌دهد.

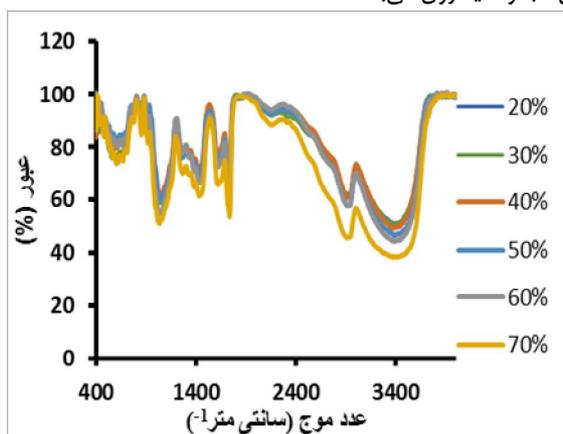
صمغ قدومه شهری (Seyedi *et al.*, 2014)، صمغ قدومه شیرازی - پروتئین نخود (Ebrahimi *et al.*, 2016) و نشاسته ذرت-کیتوزان (Garcia *et al.*, 2006) گزارش شده است. افزایش درصد گلیسرول در فیلم توانایی مسدود کردن نور فرا بنفش را بهبود بخشید (شکل ۱).



شکل ۱- درصد عبور نور فیلم ترکیبی صمغ قدومه شیرازی-پلی وینیل الکل با نسبت‌های مختلف گلیسرول

طیف‌سنج مادون قرمز

آنالیز طیف مادون قرمز برای تعیین گروه عاملی و نوع برهمکنش‌های بین صمغ قدومه شیرازی، پلی‌وینیل الکل و پلاستی‌سایزر انجام شد. پیک مشخصه گلیسرول در عدد موج معادل 1429 cm^{-1} برای نمونه حاوی ۲۰ درصد گلیسرول ظاهر شد (شکل ۲) (Wilhelm *et al.*, 2003). با افزایش درصد گلیسرول از ۲۰ به ۷۰ درصد این پیک از طول موج 1429 cm^{-1} به 1431 cm^{-1} انتقال پیدا کرد. این انتقال عدد موج نشان‌دهنده فعل و انفعالات انجام شده بین آب و گلیسرول می‌باشد.

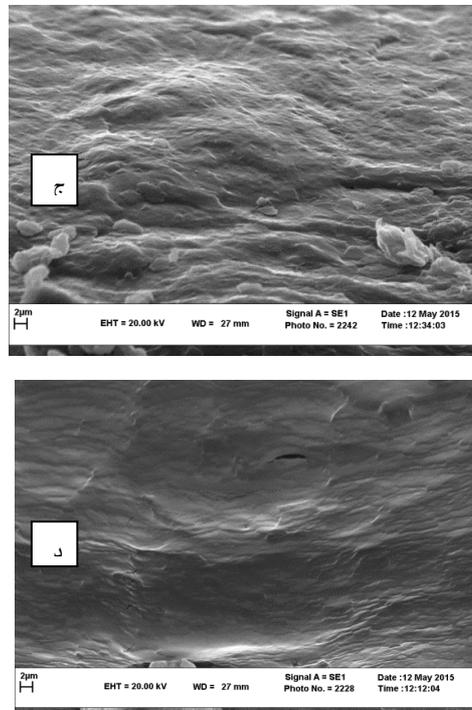
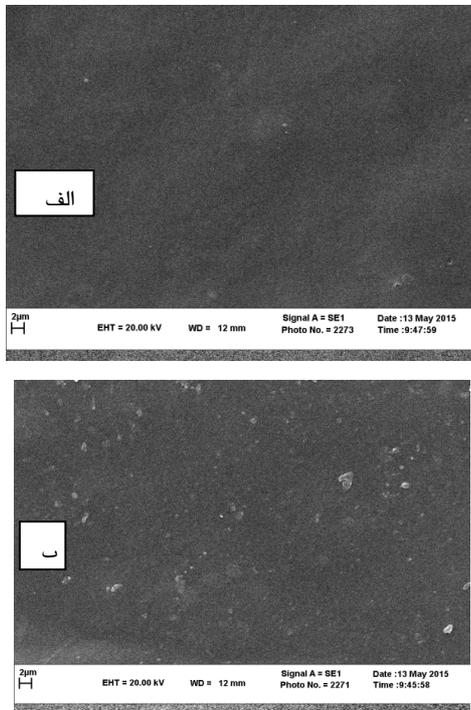


شکل ۲- طیف اسپکتروسکوپی FT-IR فیلم ترکیبی صمغ قدومه شیرازی-پلی وینیل الکل با نسبت‌های مختلف گلیسرول

برای تثبیت برهمکنش، آنالیز طیف مادون قرمز مورد استفاده قرار می‌گیرد، وقتی که دو یا چند ماده با هم مخلوط می‌شود، مواد موجود

موثر باشد. نتیجه مشابهی در فیلم‌های تهیه شده از صمغ دانه شاهی (Seyedi *et al.*, 2013a)، صمغ دانه قدومه شهری (Jouki *et al.*, 2014) آلژینات (Jost *et al.*, 2014) و صمغ دانه ریحان (Khazaei *et al.*, به دست آمد.

افزایش غلظت گلیسرول تغییر اندکی در ساختار فیلم‌ها مشاهده شد. تصاویر نشان می‌دهد، فیلم با نسبت بالاتر گلیسرول سطح یکنواخت‌تری داشته و برخلاف انواع دیگر هیچ‌گونه منفذی در آن دیده نمی‌شود. این امر می‌تواند در افزایش میزان کش‌آمدگی فیلم



شکل ۳- سطح و مقطع عرضی فیلم ترکیبی صمغ قدومه شیرازی- پلی وینیل الکل با نسبت‌های مختلف گلیسرول. میکروگراف‌های سطحی ۴۰ (الف)، ۷۰ (ب) و مقطع عرضی ۴۰ (ج)، ۷۰ (د) درصد گلیسرول.

رنگ نمونه‌ها با پلیت سفید کاهش یافت. آنالیز طیف مادون قرمز هم نشان داد که با افزایش درصد گلیسرول از ۲۰ به ۷۰ درصد برخی پیک‌ها به عدد موجی بالاتری انتقال پیدا کردند. این انتقال عدد موج نشان‌دهنده فعل و انفعالات انجام شده بین آب و گلیسرول می‌باشد. فیلم با درصد بالاتر گلیسرول تصاویر ریز ساختار با سطوح یکنواخت و بدون منفذی را نشان دادند.

قدردانی

این مقاله بر اساس طرح پژوهشی شماره ۳ گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انجام شده است. لذا بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد تشکر و قدردانی می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که گلیسرول نقش اساسی و مهمی را در تولید فیلم ترکیبی هموزن و انعطاف پذیر را بر عهده دارد. در این تحقیق از نسبت‌های ۲۰٪، ۳۰٪، ۴۰٪، ۵۰٪، ۶۰٪ و ۷۰٪ (وزنی/وزنی) گلیسرول برای تهیه فیلم‌های ترکیبی پلی‌وینیل‌الکل/ صمغ قدومه شیرازی استفاده شد. در نسبت ۲۰٪ گلیسرول، فیلم ترکیبی کمترین مقدار نفوذ پذیری به بخار آب ($4/9 \text{ g mm/m}^2 \text{ kPa d}$)، میزان کش‌آمدگی (۲/۱٪)، حلالیت در آب (۱۶/۶٪) و بیشترین مقدار در مقاومت به کشش (۶۴/۶ مگا پاسکال) و زاویه تماس با قطره آب (۷۴/۵۲ درجه) را داشت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، در فیلم ترکیبی پلی‌وینیل‌الکل/ صمغ قدومه شیرازی با افزایش غلظت گلیسرول میزان روشنایی، زردی و شفافیت فیلم افزایش و میزان قرمزی کاهش یافت. بطور کلی فاکتورهای رنگی شامل اندیس سفیدی، اندیس زردی و میزان اشباعیت رنگ افزایش و اختلاف

- Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Rezaei, M., & Behrooz, R, (2013). Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers. *Food Hydrocolloids*, 32(2), 416-424 .
- Abugoch, L. E ., Tapia, C., Villamán, M. C., Yazdani-Pedram, M., & Díaz-Dosque, M, (2011). Characterization of quinoa protein–chitosan blend edible films. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 879-886 .
- Ahmadi, R., Kalbasi-Ashtari, A., Oromiehie, A., Yarmand, M.-S., & Jahandideh ,F, (2012). Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata* Forsk). *Journal of Food Engineering*, 109(4), 745-751 .
- Angles, M. N., & Dufresne, A, (2000). Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. 1. Structural analysis. *Macromolecules*, 33(22), 8344-8353 .
- Antoniou, J., Liu, F., Majeed, H., Qazi, H. J., & Zhong, F, (2014). Physicochemical and thermomechanical characterization of tara gum edible films: effect of polyols as plasticizers. *Carbohydrate polymers*, 111, 359-365 .
- Arismendi, C., Chillo, S., Conte, A., Del Nobile, M. A., Flores, S., & Gerschenson, L. N, (2013). Optimization of physical properties of xanthan gum/tapioca starch edible matrices containing potassium sorbate and evaluation of its antimicrobial effectiveness. *LWT-Food Science and Technology*, 53(1), 290-296 .
- ASTM, Designation E96-00, (2000). Standard method for water Vapor transmission of materials. In Annual Book of ASTM Standards. *American Society for Testing and Materials*.
- ASTM, Designation D882-02, (2002). Standard method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. In Annual Book of ASTM Standards. *American Society for Testing and Materials*.
- da Silva, M. A., Bierhalz, A. C. K., & Kieckbusch, T. G, (2009). Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca 2+ ions: effect of the plasticizer concentration. *Carbohydrate polymers*, 77(4), 736-742 .
- Ebrahimi, S. E., Koocheki, A., Milani, E., & Mohebbi, M, (2015). Interactions between *Lepidium perfoliatum* seed gum–grass pea (*Lathyrus sativus*) protein isolate in composite biodegradable film. *Food Hydrocolloids* .
- Fabra, M., Talens, P., & Chiralt, A, (2010). Water sorption isotherms and phase transitions of sodium caseinate–lipid films as affected by lipid interactions. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 384-391 .
- Garcia, M. A., Pinotti, A., & Zaritzky, N. E, (2006). Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. *Starch □ Stärke*, 58(9), 453-463 .
- Gennadios, A., Weller, C., Hanna, M., & Froning, G, (1996). Mechanical and barrier properties of egg albumen films. *Journal of food science*, 61(3), 585-589 .
- Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., & Entezami, A. A, (2010). Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. *Innovative food science & emerging technologies*, 11(4), 697-702 .
- Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., & Oromiehie, A, (2011). Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran. *Carbohydrate polymers*, 84(1), 477-483 .
- Gontard, N., & Guilbert, S, (1994). Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin Food packaging and preservation (pp. 159-181): *Springer*.
- Gontard, N., Guilbert, S., & Cuq, J. L, (1993). Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of food science*, 58(1), 206-211 .
- Gupta, B., Agarwal, R., & Sarwar Alam, M. S. (2013). Preparation and characteri-zation of polyvinyl alcohol–polyethylene oxide–carboxymethyl cellulose blendmembranes. *Journal of Applied Polymer Science*, 127(2), 1301–1308.
- Han, J. H., & Floros, J. D, (1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13(4), 287-298 .
- Haq, M. A., Hasnain, A., & Azam, M, (2014). Characterization of edible gum cordia film: Effects of plasticizers. *LWT-Food Science and Technology*. 55(1), 163-169.
- Hesarinejad, M. A., Razavi, S. M., & Koocheki, A, (2015). Alyssum homolocarpum seed gum: Dilute solution and some physicochemical properties. *International journal of biological macromolecules*, 81, 418-426 .
- Jia, D., Fang, Y., & Yao, k, (2009). Water vapor barrier and mechanical properties of konjac glucomannan–chitosan–soy protein isolate edible films. *Food and bioproducts processing*, 87(1), 7-10 .
- Jost, V., Kobsik, K., Schmid, M., & Noller, K, (2014). Influence of plasticiser on the barrier, mechanical and grease resistance properties of alginate cast films. *Carbohydrate polymers*, 110, 309-319 .
- Jouki, M., Khazaei, N., Ghasemlou, M., & HadiNezhad, M, (2013a). Effect of glycerol concentration on edible film production from cress seed carbohydrate gum. *Carbohydrate polymers*, 96(1), 39-46 .
- Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Koocheki, A, (2013b). Physical, barrier and antioxidant properties of a

- novel plasticized edible film from quince seed mucilage. *International journal of biological macromolecules*, 62, 500-507 .
- Kanatt, S. R., Rao, M., Chawla, S., & Sharma, A, (2012). Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290-297 .
- Khazaei, N., Esmaili, M., Djomeh, Z. E., Ghasemlou, M., & Jouki, M, (2014). Characterization of new biodegradable edible film made from basil seed (*Ocimum basilicum* L.) gum. *Carbohydrate polymers*, 102, 199-206 .
- Koocheki, A., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., Razavi, S., Kadkhodae, R., & Milani, J. M, (2010). Optimization of mucilage extraction from Qodume shirazi seed (*Alyssum homolocarpum*) using response surface methodology. *Journal of Food Process Engineering*, 33(5), 861-882 .
- Koocheki, A., Shahidi, F., Mortazavi, S.A., Karimi, M., & Milani, E. (2011). Effect of QodumeShirazi (*Alyssum Homolocarpum*) seed and xanthan gum on rheological properties of wheat flour dough and quality of bread. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 7(1): 9-16.
- Kowalczyk, D., & Baraniak, B, (2011). Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 295-305 .
- Kurt, A., & Kahyaoglu, T. (2014), Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan. *Carbohydrate polymers*, 104, 50-58.
- Li, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Zhao, G., & Leng, X, (2011). Fabrication and characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1098-1104 .
- Mali, S., Sakanaka, L., Yamashita, F., & Grossmann, M, (2005). Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. *Carbohydrate polymers*, 60(3), 283-289 .
- Marsh, K., & Bugusu, B, (2007). *Food packaging—roles, materials, and environmental issues*. *Journal of food science*, 72(3), R39-R55 .
- Martins, J. T., Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Souza, B. W., & Vicente, A. A, (2012). Synergistic effects between κ -carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 280-289 .
- Mchugh, T. H., Aujard, J. F., & Krochta, J, (1994). Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. *Journal of food science*, 59(2), 416-419 .
- Motedayen, A. A., Khodaiyan, F., & Salehi, E. A. (2013). Development and characterisation of composite films made of kefir and starch. *Food chemistry*, 136(3), 1231-1238 .
- Mu, C., Guo, J., Li, X., Lin, W., & Li, D, (2012). Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 22-29 .
- Müller, C. M., Yamashita, F., & Laurindo, J. B, (2008). Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. *Carbohydrate polymers*, 72(1), 82-87 .
- Muñoz, L., Aguilera, J., Rodriguez-Turienzo, L., Cobos, A., & Diaz, O, (2012). Characterization and microstructure of films made from mucilage of *Salvia hispanica* and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 111(3), 511-518 .
- Nkwachukwu, O. I., Chima, H. C., Ikenna, A. O., & Albert, L. (2013). Focus on potential environmental issues on plastic world towards a sustainable plastic recycling in developing countries. *International Journal of Industrial Chemistry*, 4, 1-34.
- Piermaria, J., Bosch, A., Pinotti, A., Yantorno, O., Garcia, M. A., & Abraham, A. G, (2011). Kefiran films plasticized with sugars and polyols: water vapor barrier and mechanical properties in relation to their microstructure analyzed by ATR/FT-IR spectroscopy. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1261-126 .
- Piermaria, J. A., Pinotti, A., Garcia, M. A., & Abraham, A. G, (2009). Films based on kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: Development and characterization. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 684-690 .
- Ramos, Ó. L., Reinas, I., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Cerqueira, M. A., Pereira, R. N., & Malcata, F. X, (2013). Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 110-122 .
- Razavi, S. M. A., Amini, A. M., & Zahedi, Y. (2015). Characterisation of a new biodegradable edible film based on sage seed gum: Influence of plasticiser type and concentration. *Food Hydrocolloids*, 43, 290-298 .
- Rezaee Taghiabadi, M., Maftoonazad, N., Badiie, F., & Hosseini, S.A. A. (2013). Evaluation of factors affecting mechanical properties, opacity and water vapor permeability of edible films based on gum tragacanth by using RSM method. *Journal of Food Science*, 9 (37), 123 to 134.
- Saurabh, C. K., Gupta, S., Bahadur, J., Mazumder, S., Variyar, P. S., & Sharma, A, (2013). Radiation dose dependent change in physicochemical, mechanical and barrier properties of guar gum based films. *Carbohydrate polymers*,

- 98(2), 1610-1617 .
- Seyedi, S., Koocheki, A., Mohebbi, M., & Zahedi, Y, (2014). Lepidium perfoliatum seed gum: A new source of carbohydrate to make a biodegradable film. *Carbohydrate polymers*, 101, 349-358 .
- Shen, Z., Ghasemlu, M., & Kamdem, D. P. (2015). Development and compatibility assessment of new composite film based on sugar beet pulp and polyvinyl alcohol intended for packaging applications. *Journal of applied polymer science*, 132, 41354.
- Silva, F. E. F., Batista, K. A., Di-Medeiros, M. C. B., Silva, C. N. S., Moreira, R. B., & Fernandes, K. F. (2016). A stimuli-responsive and bioactive film based on blended polyvinyl alcohol and cashew gum polysaccharide. *Materials Science and Engineering*, 58, 927-934.
- Sothornvit, R., & Krochta, J, (2005). Plasticizers in edible films and coatings. *Innovations in food packaging*, 403-433 .
- Sothornvit, R., & Krochta, J. M, (2001). Plasticizer effect on mechanical properties of β -lactoglobulin films. *Journal of Food Engineering*, 50(3), 149-155 .
- Souza, B. W., Cerqueira, M. A., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A, (2010). The use of electric fields for edible coatings and films development and production: a review. *Food Engineering Reviews*, 2(4), 244-255 .
- Srinivasa, P., Ramesh, M., Kumar, K., & Tharanathan, R, (2003). Properties and sorption studies of chitosan-polyvinyl alcohol blend films. *Carbohydrate polymers*, 53(4), 431-438 .
- Su, J.-F., Huang, Z., Yuan, X.-Y., Wang, X.-Y., & Li, M, (2010). Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. *Carbohydrate polymers*, 79(1), 145-153 .
- Sun, Q., Sun, C., & Xiong, L, (2013). Mechanical, barrier and morphological properties of pea starch and peanut protein isolate blend films. *Carbohydrate polymers*, 98(1), 630-637 .
- Suyatma, N. E., Tighzert, L., Copinet, A., & Coma, V, (2005). Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 3950-3957 .
- Synsytysya, A., Čopíková J., Matějka, P., & Machovič, V, (2003). Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins. *Carbohydrate polymers*, 54(1), 97-106 .
- Thakhiew, W., Devahastin, S., & Soponronnarit, S, (2010). Effects of drying methods and plasticizer concentration on some physical and mechanical properties of edible chitosan films. *Journal of Food Engineering*, 99(2), 216-224 .
- Tian, H., Xu, G., Yang, B & Guo, G, (2011). Microstructure and mechanical properties of soy protein/agar blend films: Effect of composition and processing methods. *Journal of Food Engineering*, 107(1), 21-26 .
- Wilhelm, H.-M., Sierakowski, M.-R., Souza, G., & Wypych, F. (2003). Starch films reinforced with mineral clay. *Carbohydrate polymers*, 52(2), 101-110 .
- Yang, S. Y., & Huang, C. Y. (2008). Plasma treatment for enhancing mechanical and thermal properties of biodegradable PVA/starch blends. *Journal of Applied Polymer Science*, 109(4), 2452-2459.
- Yuen, S.-N., Choi, S.-M., Phillips, D. L., & Ma, C.-Y. (2009). Raman and FTIR spectroscopic study of carboxymethylated non-starch polysaccharides. *Food chemistry*, 114(3), 1091-1098.
- Zhou, J., Wang, S., & Gunasekaran, S, (2009). Preparation and characterization of whey protein film incorporated with TiO₂ nanoparticles. *Journal of food science*, 74(7), N50-N56 .

The Effect of Different Concentrations of Glycerol on Properties of Blend Films Based on Polyvinyl Alcohol-*Allysum Homolocarpum* Seed Gum

L. Monjazez Marvdashti¹, M. Yavarmanesh^{2*}, A. Koocheki³

Received: 2016.01.13

Accepted: 2016.06.18

Introduction: Packaging is an important factor in food industry and is dominated by petroleum-derived polymers. Therefore, the amount of research involving the production and characterization of biodegradable films has increased substantially, mainly due to interest in minimizing the ecological impact caused by the use of synthetic packaging materials. Several biopolymers have been exploited to develop eco-friendly food packaging materials. Usually, films based on biopolymers are highly sensitive to environmental conditions and generally present low mechanical resistance. As a result, several researchers have developed films based on mixtures of biopolymers and synthetic polymers. In order to increase the workability and flexibility of biodegradable films, various plasticizers, usually poly-ols, have been widely used, glycerol being one of the most preferred and most studied. Plasticizers reduce intermolecular forces, increase the mobility of the biopolymer chains and thereby improve the mechanical properties of the films. Therefore, the aim of the present study were to investigate the effect of different proportions (20-100% w/w) of plasticizer (glycerol) on physicochemical, mechanical, permeability, surface and thermal properties of biodegradable PVA-AHSG blend films.

Polymer blending is one of the most effective methods to have new material with desired properties. Films formed by blending of polymers usually results in modified physical and mechanical properties compared to films made of individual components. Since synthetic polymers are easily obtained and have low production cost, blending of natural and synthetic polymers improves the cost performance ratio of the resulting films.

Since *Alyssum homolocarpum* seed gum (AHSG) is environmentally friendly due to its biodegradability and has good film forming properties, it is considered as a very promising biopolymer.

Some synthetic polymers from non-renewable sources are also biodegradable, such as polyvinyl alcohol (PVA). PVA is a synthetic, water soluble polymer with excellent film forming, emulsifying, and adhesive properties. It also imparts good tensile strength (TS) and biodegradability and hence has been used in many biomaterial applications. PVA has also been approved for use in packaging meat and poultry products by the USDA (DeMerlis&Schonek, 2003). AHSG contains free hydroxyl and amine groups, and is therefore miscible with PVA due to the formation of hydrogen bonds.

Materials and methods: The aim of this study was to investigate the possibility of producing a novel biodegradable blend film from PVA-AHSG with glycerol as plasticizer in the different concentrations. Films were prepared by the casting method using PVA and AHSG (60:40 ratio). Glycerol was used as plasticizer because it is compatible with PVA-AHSG blend improving film flexibility, facilitating its handling and preventing cracks. The PVA-AHSG blend film was prepared with different glycerol concentration (20-70%, w/w). The optical properties such as opacity and color were measured. Water vapor permeability, moisture content, water solubility and density of the films were also investigated. Films were evaluated for mechanical and antioxidant properties. The PVA-AHSG blend films were characterized using DSC, FTIR and scanning electron microscopy.

Results and Discussion: The results of this study showed that blend of PVA and AHSG could be used as a new film-forming material. However, it was not possible to make PVA-AHSG blend films without addition of glycerol as a plasticizer to the formula. Glycerols in 20-70% (w/w) concentration were used to prepare the blend films. At the level of 20% (W/W) of glycerol, PVA-AHSG blend films had the lowest thickness (0.065 mm), moisture sorption (118.76%), water vapor permeability (WVP) values ($4.9 \text{ g mm m}^{-2} \text{ kPa}^{-1} \text{ d}^{-1}$), elongation at break (EB)(2.1%), moisture content (22.5%) and water solubility (16.6%) and the highest values for tensile

1, 2 and 3. Former MSc student, Assistant professor and Associated Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.

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

strength (TS)(64.6 MPa), young modulus (YM) (892 MPa), density (0.109 g cm^{-3}), opacity (0.069 A/mm) and water contact angle (74.52°). Increasing of glycerol concentration in PVA-AHSG blend films resulted in increase in water vapor permeability and percent of elongation while, decreased tensile strength and surface hydrophobicity.

Increasing the glycerol concentration significantly ($p < 0.05$) diminished initial water contact angle of films from 74.52° to 37.80° . It has been shown that the addition of plasticizers diminished the films' water contact angle, which in turn, decreased hydrophobicity of the films. The higher hydro-philicity of the samples is attributable to the hygro-scopicity (water-binding capacity) of the plasticizer. Plasticizer can diminish interactions between biopolymer molecules and increase solubility due to its hydrophilic nature, giving the polymer molecules higher affinity to attract water. The moisture content increased significantly from 22.5% to 40.9% as the plasticizer content increased ($p < 0.05$). Because of glycerol acts as a water-holding agent, with the higher number of water molecules in glycerol-plasticized films increasing plasticizing activity. WVP increases as plasticizer content of the film increases due to its hydrophilic nature. WVP can be directly related to the quantity of OH group on the molecule. Also, environmental conditions can significantly affect the WVP. Increasing plasticizer concentration decreased the intermolecular forces between polymer chains and increased free volume and segmental motions, allowing water molecules to diffuse more easily and giving a higher WVP. Mechanical strength of films decreases due to plasticizer addition resulting in decreased tensile strength and increased elongation. The measurement of color values showed that by the increasing of the glycerol concentration in polymers blend matrix, the b and L values increased while a value decreased. Furthermore, the addition of glycerol promoted the interactions among PVA, AHSG and glycerol through hydrogen bonding as reflected on the shifting of main peaks of the glycerol-free film to higher wavenumbers as shown by FTIR spectra. Microscopic views indicated smooth and uniform surface morphology without obvious cracks, breaks, or openings on the surfaces after the incorporation of glycerol as a plasticizer. Scanning electron microscopy showed that the microstructure of PVA-AHSG blend films have a critical effect on their physical and mechanical properties that is important in food packaging applications.

Keywords: *Alyssum homolocarpum* seeds gum; Biodegradable; Polyvinyl alcohol; Glycerol.

تأثیر نانوپرکننده‌های دی‌اکسیدتیتانیم و مونت‌موریلونیت بر ویژگی‌های توپوگرافی، حرارتی و نوری فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیت بر پایه نشاسته

سید امیر اولیایی^۱، بابک قنبرزاده^{۲*}، علی اکبر مؤیدی^۳، فرهنگ عباسی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۱۴

چکیده

در این پژوهش، فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیت نشاسته‌ی نرم‌شده (PS) حاوی نانولایه‌های دو بعدی سدیم مونت‌موریلونیت (MMT) و نانوذرات سه بعدی دی‌اکسید تیتانیم (TiO₂) به روش قالب‌ریزی تهیه شدند. توپوگرافی سطح و ساختار شیمیایی فیلم‌ها توسط میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و طیف‌سنجی فروسرخ (FT-IR) مطالعه گردید. در آمیزه‌ی دوجزئی PS-MMT، لایه‌های ورقه‌ای شده‌ی نانورس، به‌طور یکنواخت در ماتریس پلیمری پخش شده‌اند. تصاویر سه‌بعدی میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) توزیع یکنواخت‌تر نانورس و TiO₂، زبری کمتر و سطح صاف‌تر ماتریس 3% PS-MMT نسبت به فیلم‌های دوجزئی PS-3%MMT را نشان داد. وجود پیوندهای هیدروژنی و برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین نانورس و TiO₂ با یکدیگر و با زنجیرهای نشاسته توسط پیک‌های مربوط به پیوند C-O-H در 1142 cm⁻¹ و 990 cm⁻¹ و افزایش پهنای باند و شدت جذب در ناحیه 800-500 cm⁻¹ در طیف‌سنجی فروسرخ (FT-IR) تأیید گردید. نتایج آزمون گرماسنج پویایی تفاضلی (DSC) نشان داد، افزایش غلظت TiO₂ فیلم‌های PS-3%MMT باعث افزایش دمای ذوب و دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) به ترتیب از 295/1 تا 306/3 درجه سانتی‌گراد و از 199/1 تا 207/6 درجه سانتی‌گراد گردیده است. افزایش غلظت نانورس تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای رنگی فیلم نداشت، اما با افزایش 1٪ محتوی TiO₂ در فیلم حاوی 3٪ نانورس، اختلاف رنگ کلی (ΔE) و اندیس سفیدی (WI) فیلم‌ها به ترتیب 86/6٪ و 76٪ افزایش یافته و از میزان سرخی وزردی آنها کاسته شد. به‌منظور بررسی کدورت و رفتار جذب پرتوهای نوری از اسپکتروفتومتری UV-Vis در دامنه طول موج 200-800 nm استفاده شد. نتایج نشان داد که می‌توان فیلم نانوکامپوزیتی حاصل را به‌عنوان ماده بسته‌بندی جهت حفاظت از محتویات در برابر پرتوهای نور UV و مرئی بکار برد.

واژه‌های کلیدی: نشاسته، مونت‌موریلونیت، TiO₂، نانوکامپوزیت، زیست‌تخریب‌پذیر.

مقدمه

امروزه صنعت مواد پلاستیکی دارای سریع‌ترین رشد در بین صنایع می‌باشد و بسته‌بندی مواد غذایی بزرگترین بازار مصرف مواد

پلاستیکی به‌شمار می‌آید (Rhim, 2007). با این‌حال، مشکلات زیست‌محیطی ناشی از کاربرد فرآورده‌های پلیمری بر پایه نفت، نظیر مواد پلی‌فینی در صنایع بسته‌بندی، افزایش تقاضا برای مواد غذایی دارای بسته‌بندی‌های سالم‌تر همراه با کمبود روزافزون منابع نفتی از جمله دلایل مهم برای پژوهش و سرمایه‌گذاری اقتصادی در زمینه استفاده از پلیمرهای زیستی در صنعت بسته‌بندی مواد غذایی می‌باشند (Ray and Bousmina, 2005). فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر که از منابع تجدیدپذیر کشاورزی (محصولات گیاهی و حیوانی) تولید می‌شوند، گزینه‌ای مناسب برای جایگزین شدن پلاستیک‌های سنتزی به‌حساب می‌آیند (Park et al., 2000). بیوپلیمرهای طبیعی رایج و پرکاربرد در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر، پروتئین‌ها، پلی-ساکایدها و لیپیدها می‌باشند که به‌تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر مورد استفاده قرار می‌گیرند (Hernandez et al., 2008). پلی‌ساکارید نشاسته به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بیوپلیمرها در تولید پلاستیک‌های

- ۱- دانشجوی دکتری مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۲- استاد شیمی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
- ۳- استادیار، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.
- ۴- استاد مهندسی پلیمر، پژوهشکده مواد پلیمری، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران.

* - نویسنده مسئول: (Email: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir)

نشاسته نرم‌شده، زردی فیلم را افزایش داده است؛ اما بر شفافیت فیلم تأثیری معنی‌داری نداشته است.

گزارش‌های محدودی در مورد تقویت ویژگی‌های کاربردی و ساختاری فیلم‌های بیوپلیمری توسط نانوذرات فلزی ارائه شده است (Li *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2009; Cerrada *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2008). تیتانیوم‌دی‌اکسید (TiO_2) از جمله نانوذرات فلزی پرمصرف است که بدلیل داشتن ویژگی‌هایی مانند شاخص پراکندگی بالای نور ($>2/5$)، جذب نسبتاً یکنواخت نور مرئی و پرتوهای فرابنفش (UV) کاربرد زیادی در صنایع رنگ، کاغذ و پلاستیک دارد و به عنوان اصلی‌ترین منبع رنگدانه سفید برای پلیمرها شناخته شده است (Cerrada *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2009). غیرسمی بودن و داشتن فعالیت ضد میکروبی علیه انواع میکروارگانیسم‌ها، موجب شده است تا TiO_2 به‌عنوان یک افزودنی در صنعت مواد غذایی مورد توجه قرار گیرد. سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) و استاندارد کدکس کاربرد TiO_2 در مواد غذایی و سطوح در تماس مستقیم با آن را تأیید کرده است. حداکثر مقدار مجاز TiO_2 در داخل مواد غذایی ۱٪ وزنی می‌باشد (Li *et al.*, 2011). نانوذره TiO_2 بدلیل داشتن گروه‌های دارای بار مثبت روی سطح، ماهیت قطبی دارد و با ماتریس‌های بیوپلیمری سازگار است. با این وجود، مطالعات اندکی در ارتباط با تأثیر نانوذرات TiO_2 بر خواص ساختاری و ویژگی‌های کاربردی فیلم‌های بیوپلیمری صورت گرفته است. در پژوهش انجام‌شده توسط Zhou و همکاران (۲۰۰۹) و Li و همکاران (۲۰۱۱)، نانوذرات TiO_2 بطور یکنواخت و بدون ایجاد توده در ماتریس فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین‌های آب‌پنیر^۳ (WPI) پراکنده شدند. این محققان ویژگی‌های ریزساختاری، توپوگرافی و نوری زیست‌نانوکامپوزیت‌های WPI- TiO_2 را مطالعه نموده و نتیجه گرفتند که وجود برهمکنش‌های الکترواستاتیک، هیدروژنی یا O-Ti-O بین نانوذرات TiO_2 و ملکول‌های بیوپلیمر WPI، باعث کاهش نفوذپذیری و بهبود خواص مکانیکی شده است. حضور نانوذرات TiO_2 به میزان ۱٪ موجب ایجاد رنگ سفید و ممانعت از عبور پرتوهای نور UV مرئی به ترتیب به میزان ۹۰٪ و ۷۰٪ از فیلم گردید.

اگرچه تأثیر هرکدام از این نانومواد (مونت‌موریلونیت و TiO_2) بصورت جداگانه بر روی خواص ساختاری، مکانیکی و بازدارندگی فیلم‌ها مورد بررسی قرار گرفته است، اما تاکنون گزارشی مشخص و معتبر درباره‌ی استفاده همزمان این نانو مواد به‌عنوان پرکننده در یک ماتریس بیوپلیمری ارائه نشده است. در این پژوهش، برای اولین بار، فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیت نشاسته حاوی مخلوط مونت‌موریلونیت و نانوذرات TiO_2 تولید و تأثیر نوع و درصد نانوذرات بر شکل‌شناسی

زیست‌تخریب‌پذیر شناخته شده است. مهم‌ترین مزایای نشاسته نسبت به پلیمرهای حاصل از مشتقات نفتی، زیست‌تخریب‌پذیری، تجدیدپذیری، فراوان بودن و همچنین خوراکی بودن و بازدارندگی مناسب آن در برابر نفوذ اکسیژن، دی‌اکسیدکربن و مواد معطر است. با این وجود، خواص مکانیکی و بازدارندگی نسبت به بخار آب نسبتاً ضعیف فیلم نشاسته، باعث ایجاد محدودیت کاربرد این ترکیب در مقیاس صنعتی شده است (Rhim, 2007). امروزه استفاده از نانوپرکننده‌های مختلف، به‌عنوان یک راهکار موثر برای غلبه بر محدودیت ویژگی‌های کاربردی فیلم نشاسته در نظر گرفته می‌شود. بدلیل اندازه‌ی بسیار کوچکتر ذرات در مقیاس نانو نسبت به میکرو، متوسط فاصله بین ذرات کاهش یافته و در مقدار مشخصی از ماده، اتم‌های سطحی بیشتر و در نتیجه نسبت سطح به حجم، میزان ناحیه بینابینی و فصل مشترک بیشتری بین ذرات و پیکره بیوپلیمری وجود دارد؛ لذا سازگاری بین بیوپلیمر و پرکننده به دلیل برهمکنش‌های بیشتر بین آنها افزایش می‌یابد. تحقیقات مختلف نشان داده است که استفاده از نانوپرکننده‌ها، موجب افزایش خواصی مانند بازدارندگی در مقابل گازها، مقاومت حرارتی، پایداری ابعادی، سختی و چقرمگی می‌شود (Deka and Maji, 2011).

مونت‌موریلونیت^۱ (MMT) مهم‌ترین و کاربردی‌ترین سیلیکات لایه‌ای است که بخاطر زیست‌سازگاری، دسترسی آسان و قیمت پایین به طور گسترده در تولید نانوکامپوزیت‌های بیوپلیمری مورد استفاده قرار می‌گیرد. توده‌شدن لایه‌های سیلیکات روی هم توسط پیوندهای واندروالس موجب ایجاد یک فضای خالی بین لایه‌ای می‌گردد، که اصطلاحاً فضای گالری یا فاصله^۲ (d_{001}) نامیده می‌شود. لایه‌ها دارای ضخامت تقریبی ۱ نانومتر و طول ۲۰ نانومتر تا چندین میکرومتر می‌باشند. مونت‌موریلونیت طبیعی به دلیل داشتن ماهیت آبدوست، تمایل زیادی به ترکیب شدن با نشاسته دارد. در سال‌های اخیر، پژوهش‌های متعددی درباره‌ی اثرات افزودن نانولایه‌های مونت-موریلونیت بر خواص بازدارندگی، حرارتی، مکانیکی فیلم‌های نشاسته-ای انجام شده است (Majdzadeh and Nazari, 2010; Chung *et al.*, 2010). الماسی و همکاران (۲۰۱۰)، گزارش دادند که در اثر برهمکنش‌های قوی بین لایه‌های نانورس و نشاسته، مقاومت به کشش نهایی فیلم افزایش و کرنش تا نقطه‌ی شکست کاهش می‌یابد. در این پژوهش، در سطح ۷٪ وزنی نانورس، مقاومت به کشش و کرنش تا نقطه‌ی شکست نانوکامپوزیت نسبت به فیلم خالص، به ترتیب ۱۸۰٪ افزایش و ۷۱٪ کاهش یافت. نتایج مطالعه انجام‌شده توسط نوشیروانی و همکاران (۲۰۱۲)، علاوه بر تأیید بهبود خواص مکانیکی، نشان داد که افزودن نانوذرات مونت‌موریلونیت به فیلم

1 Montemorillonite
2 basal d space (d_{001})

3 Whey Protein Isolate

خشک شده به آرامی از سطح پتری دیش جدا گردید. قبل از انجام آزمون‌ها، همه فیلم‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط (25°C - 20) و درون دسیکاتور حاوی نیترات کلسیم (رطوبت نسبی ۵۵-۵۰ درصد) مشروط شدند (قنبرزاده و همکاران، ۲۰۱۴).

اندازه‌گیری ضخامت فیلم

ضخامت فیلم‌ها با استفاده از میکرومتر Alton (ساخت چین) با دقت 0.01 mm تعیین شد. اندازه‌گیری در ۵ نقطه مختلف فیلم انجام و سپس میانگین نتایج مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون میکروسکوپ نیروی اتمی

از دستگاه میکروسکوپ پروب پوششی (SPM) مدل Dualscope/Rasterscope C26, DME ساخت کشور دانمارک برای مشاهده ریزساختار زیست‌نانوکامپوزیت و تعیین اندازه‌ی ذرات استفاده شد. در این آزمون تصاویر در پنج Scan size مختلف 10×10 ، 5×5 ، 3×3 ، 1×1 میکرومتر مربع و 500×500 نانومتر مربع تهیه شدند. ثبت تصاویر توسط کاونده STM با پایه‌ی مستطیلی شکل (Mikromasch CSC12) و نوک مخروطی دارای پوشش پلاتین با نیروی ثابت $1/5$ - $0/15$ N/m انجام گردید. متوسط زبری (R_a) و انحراف معیار پروفیل ارزیابی شده (R_q) رایج‌ترین پارامترهای کمی برای تعیین زبری سطحی نمونه می‌باشند، که با استفاده از نرم‌افزار مربوط به این دستگاه محاسبه شدند (قنبرزاده و همکاران، ۲۰۱۴).

طیف‌سنجی فروسرخ با تبدیل فوریه (FT-IR)

از دستگاه اسپکتروفتومتر FT-IR مدل Tensor27 ساخت شرکت Bruker انگلستان برای نمایش پیوند بین گروه‌های عملکرد شیمیایی ماتریس پلیمری و نانوذرات افزوده شده مطابق روش Perez-Mateos و همکاران (۲۰۰۹) استفاده شد. نمونه‌هایی از فیلم با قطر 1 cm و ضخامت $20 \mu\text{m}$ تهیه و در بین دو قرص KBr فشرده شدند. قرص‌های حاوی نمونه داخل سل دستگاه قرار گرفتند. سپس طیف فروسرخ در حالت عبور آنها در گستره‌ی 4000 - 400 cm^{-1} و با تفکیک‌پذیری 4 cm^{-1} ثبت گردید.

اندازه‌گیری خواص حرارتی

برای یافتن دماهای ذوب و انتقال شیشه‌ای فیلم‌ها از دستگاه گرماسنج پوششی تفاضلی (DSC) مدل Netzsch DSC 200 F3 ساخت کشور آلمان استفاده شد. کالیبره کردن دستگاه توسط ایندیوم و نقره صورت گرفت. ظرف خالی آلومینیومی به‌عنوان مرجع و جو نیتروژن مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌هایی با وزن تقریبی ۳ میلی‌گرم با سرعت $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ در گستره‌ی دمایی 30 تا 320 درجه سانتی‌گراد پوشش شدند. از روی دمانگاشت ثبت‌شده، دماهای ذوب

فاز، پراکنش ذرات، پیوندهای فیزیکوشیمیایی موجود و خواص نوری فیلم‌های تهیه‌شده ارزیابی شده است.

مواد و روش‌ها

نشاسته سیب زمینی (رطوبت ۱۲٪ و گرانیوی ۴۱۰ cP) از شرکت صنایع تبدیلی الوند همدان تهیه شد. از گلیسرول محصول شرکت Merk آلمان استفاده گردید. نانوذرات TiO_2 (دگوسا P25) حاوی ۸۰ درصد فرم بلوری آتاتاز و ۲۰ درصد فرم روتایل، دارای متوسط اندازه نانوذرات ۲۱ nm و مساحت سطح واکنش $50 \pm 15 \text{ m}^2/\text{g}$ از شرکت Evonik Degussa GmbH خریداری شد. سدیم مونت موریلونیت دارای درجه‌ی خلوص ۹۸-۹۶٪ نسبت ابعادی یا نسبت قطر به ضخامت ۲۰۰، فاصله بین لایه‌ها کمتر از ۳ nm و رطوبت کمتر از ۳٪ از شرکت Nanocore (Arlington Heights, IL) خریداری گردید.

تهیه فیلم زیست‌نانوکامپوزیتی نشاسته

برای تولید فیلم حاوی هر دو نانوذره، ابتدا سوسپانسیون مادر ۱٪ نانورس و ۱٪ TiO_2 بصورت وزنی - حجمی و به‌طور جداگانه تهیه شد. برای این منظور ۱ گرم نانورس یا TiO_2 توزین و در بالن ژوژه‌های جداگانه ریخته و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شدند. سوسپانسیون‌های تهیه‌شده، به‌مدت ۶ ساعت توسط همزن مغناطیسی با سرعت ۸۰۰ rpm همزده شدند. سپس به‌مدت ۶۰ دقیقه داخل حمام آبی دستگاه اولتراسوند قرار گرفته و توسط امواج فراصوتی منتشرشده، تیمار شدند. در طول این مدت، ۴ گرم نشاسته در ۸۰ ml آب مقطر حل گردید و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبی همراه با همزدن حرارت داده شد. در ادامه به ژل تشکیل‌شده مقدار مناسبی از سوسپانسیون مادر نانورس (درصدهای مختلف ۳ و ۵٪ MMT) و سوسپانسیون مادر TiO_2 (درصدهای مختلف ۰/۵، ۱ و ۲٪ TiO_2) و آب مقطر به‌صورت قطره‌قطره و همراه با همزدن اضافه گردید. جهت خروج حباب‌های هوا و تولید فیلم یکنواخت، ژل نشاسته‌ی ژلاتینه‌شده توسط پمپ خلأ هواگیری شد. به‌منظور توزیع بهتر نانوذرات، این محلول به‌مدت ۳۰ دقیقه در داخل حمام آبی دستگاه اولتراسوند قرار گرفته و توسط امواج فراصوتی منتشرشده، تیمار گردید. ۲ml گلیسرول (۵۰٪ وزن نشاسته) به‌عنوان پلاستی‌سایزر به آن اضافه و به مدت ۶۰ ثانیه با سرعت ۵۰۰ rpm توسط همزن مغناطیسی همزده شد. به‌منظور خروج حباب‌های هوا از محلول، مجدداً از پمپ خلأ استفاده گردید. در ادامه، ۲۳ گرم از این محلول، داخل پتری دیش پلی‌استایرنی ریخته شد تا پس از خشک شدن فیلمی با ضخامت ۲۰۰ میکرون تولید شود. این پتری دیش‌ها به مدت ۱۵ ساعت در آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس فیلم

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمون‌های کمی سه مرتبه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم‌افزار آماری SPSS19 در سطح احتمال ۵٪ ($P < 0.05$) و آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام گرفت.

نتایج و بحث

میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)

به منظور بررسی خصوصیات سطح فیلم از تصاویر توپوگرافی ثبت‌شده توسط کاونده پویشی AFM استفاده گردید. مورفولوژی سطح و میزان زبری فیلم‌های مورد استفاده در بسته‌بندی اهمیت زیادی دارد. در تولید صنعتی فیلم‌ها، افزایش میزان زبری، عیب محسوب می‌شود، زیرا زبری زیاد باعث افزایش اصطکاک دستگاه‌ها و استهلاک آنها می‌گردد. تعیین ویژگی‌های سطح فیلم و زبری آن توسط AFM در شناخت دقیق‌تر نانوکامپوزیت‌های تولیدشده مؤثر است و تفاوت‌های نانو ساختاری بین فیلم‌های تهیه‌شده حاوی انواع و مقادیر مختلف نانوذرات را نشان می‌دهد. این موضوع در طراحی و تولید فیلم‌های نانوکامپوزیتی کارآمد مفید می‌باشد.

مزیت اصلی استفاده از AFM، اندازه‌گیری در ابعاد مختلف با قدرت تفکیک بسیار زیاد و ارائه داده‌های سه‌بعدی به شیوه رقمی می‌باشد (قنبرزاده و همکاران، ۲۰۱۴؛ داداشی و همکاران، ۲۰۱۲). جدول ۱ مقادیر پارامترهای متوسط زبری (R_a) و انحراف معیار پروفیل ارزیابی شده (R_q) فیلم‌های PS-MMT و PS-MMT-TiO₂ در تمام ابعاد پویشی را نشان می‌دهد. همچنین، تصاویر توپوگرافی و سه‌بعدی این فیلم‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است.

با مطالعه نتایج به‌دست آمده مشاهده شد که حضور TiO₂ در فیلم نانوکامپوزیتی نشاسته حاوی ۳ درصد نانورس بدلیل توزیع یکنواخت و بهبود پخش هر دو نانوذره، اثر معنی‌داری بر میزان زبری و فراز و نشیب‌های سطح فیلم ندارد و حتی آن را به‌مقدار کمی کاهش داده است. اما در فیلم حاوی ۵ درصد نانورس، به‌دلیل عدم توزیع یکنواخت نانورس و TiO₂، نانوذرات در سطح فیلم قرار گرفته‌اند. در نتیجه تعداد پستی و بلندی‌ها و مقادیر R_q و R_a افزایش و یکنواختی سطح فیلم کاهش یافته است، که نشان‌دهنده تشدید انبوه شدن نانوذرات TiO₂ در اثر افزایش غلظت نانورس و همچنین تغییر مورفولوژی پخش MMT در اثر فروریزش نانولایه‌ها در حضور TiO₂ می‌باشد (Yin et al., 2009; Qu et al., 2009). همچنین این امر ممکن است به این علت باشد که با افزایش میزان نانورس، نانوذرات به‌طور یکنواخت در ماتریس نشاسته پخش نشده‌اند؛ بنابراین تعداد بیشتری از ملکول‌های MMT و TiO₂ در سطح قرار گرفته‌اند،

(T_m) و انتقال شیشه‌ای (T_g) تعیین شدند. در دمانگاشت به‌دست‌آمده، T_g به‌عنوان نقطه میانه بین شروع و پایان تغییرات منحنی در جریان گرمایی در نظر گرفته شد.

تعیین خواص رنگی

رنگ نمونه‌ها به‌وسیله دستگاه رنگ‌سنج لای باند^۱ مدل RT-300 ساخت کشور آلمان دارای منبع نوری D₆₅/۲°/۶۵ مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان رنگ، با استفاده از پارامترهای هانتر برحسب روش‌شنایی (L^*)، سرخی-سبزی (a^*) و زردی-آبی (b^*) بیان گردید. دستگاه توسط صفحات سفید و سیاه استاندارد کالیبره شد. صفحه سیاه استاندارد دارای پارامترهای رنگی ($b^* = -0.61$, $a^* = 0.13$ و $L^* = 1/35$) به‌عنوان پس‌زمینه اندازه‌گیری رنگ مورد استفاده قرار گرفت. پارامترهایی که توسط دستگاه خوانده می‌شوند؛ عبارتند از وضوح یا L^* (سفید=۱۰۰ و سیاه=۰)، a^* (سبز=۸۰ و سرخ=۱۰۰) و b^* (آبی=۸۰ و زرد=۱۰۰) (قنبرزاده و همکاران، ۲۰۱۰). اختلاف رنگ کلی (ΔE)، اندیس زردی^۲ (YI) و اندیس سفیدی^۳ (WI) نیز به-ترتیب از روابط ۱ تا ۳ محاسبه شدند:

$$\Delta E = \left[(L_{standard} - L_{sample})^2 + (a_{standard} - a_{sample})^2 + (b_{standard} - b_{sample})^2 \right]^{1/2} \quad (1)$$

$$YI = 142/86b/L \quad (2)$$

$$WI = 100 - ((100 - L)^2 + a^2 + b^2)^{1/2} \quad (3)$$

داده‌ها در طی پنج اندازه‌گیری از نقاط مختلف فیلم‌ها (یکی در مرکز و چهار عدد در پیرامون) به‌دست آمد و از آنها میانگین گرفته شد.

اندازه‌گیری میزان عبور نور و کدورت فیلم‌ها

میزان عبور نور و کدورت فیلم‌ها طبق روش استاندارد ASTM D1746 شرح داده شده توسط Sothornvit و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از اسپکتروفتومتر دوشعاعی UV-Vis مدل UV-1700 Shimadzu ساخت کشور ژاپن تعیین شد. نمونه‌های فیلم‌ها در ابعاد $3 \times 2 \text{ cm}^2$ بریده و به مدت ۲۴ ساعت در RH=۵۵٪ واجد شرایط گردیدند. نمونه بر روی یکی از سل‌های اسپکتروفتومتر قرار داده و در سل دیگر، هوا به‌عنوان مرجع در نظر گرفته شد. مقدار جذب نور فیلم در دامنه ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و نمودار میزان عبور نور آن رسم گردید. برای محاسبه میزان کدورت فیلم‌ها (Tunç and Duman, 2011) از رابطه ۴ استفاده شد:

$$\text{Opacity} = \text{Abs}_{600} / \text{ضخامت} \quad (4)$$

که در این رابطه ضخامت فیلم بر حسب mm می‌باشد.

- 1 Lovibond
- 2 Yellowness Index
- 3 Whiteness Index

(Casariego *et al.*, 2009) و پلی‌لاکتیک‌اسید (داداشی و همکاران، ۲۰۱۲) و TiO_2 بر فیلم‌های ایزوله پروتئین‌های آب پنیر (Zhou *et al.*, 2009) و کیتوزان (Al-Sagheer and Merchant, 2011) و پلی‌وینیل‌الکل (ملک‌پور و براتی، ۲۰۱۱) انجام شده است؛ که نتایج پژوهش‌های ذکر شده، نتایج تحقیق حاضر را تأیید نمود.

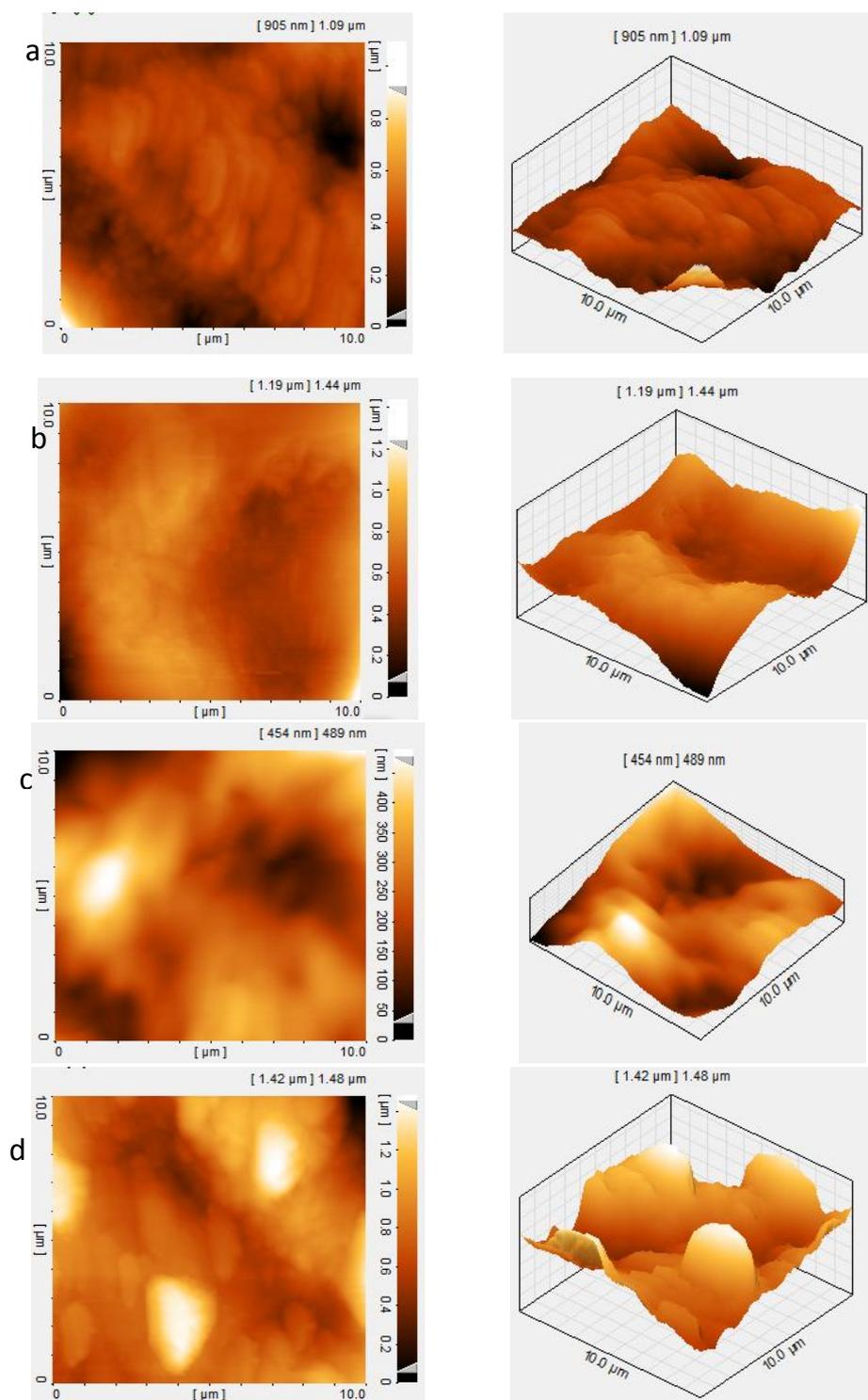
طیف‌سنجی فرو سرخ (FT-IR)

همواره فرکانس‌های مشخصی از پرتو فروسرخ، توسط گروه‌های عاملی و پیوندهای مختلف موجود در ساختار شیمیایی نمونه‌های پلیمری جذب می‌گردند. اسپکتروسکوپی فروسرخ، ابزاری مناسب در مطالعه کیفی ساختار نانوکامپوزیت‌های پلیمری است. طیف‌های FT-IR فیلم‌های PS-MMT، PS- TiO_2 و PS-MMT- TiO_2 در شکل ۳ نشان داده شده‌اند. همانگونه که مشاهده می‌شود؛ افزودن TiO_2 به فیلم PS-MMT و تولید فیلم زیست‌نانوکامپوزیت PS-MMT- TiO_2 موجب افزایش میزان جذب و کاهش نسبی ارتفاع پیک در فرکانس‌های ناحیه 3000 و 1650 cm^{-1} شده است. این رفتار به کاهش و حذف عوامل هیدروکسیل از گروه‌های Si-OH و Al-OH موجود در ساختار MMT پس از افزودن TiO_2 نسبت داده می‌شود.

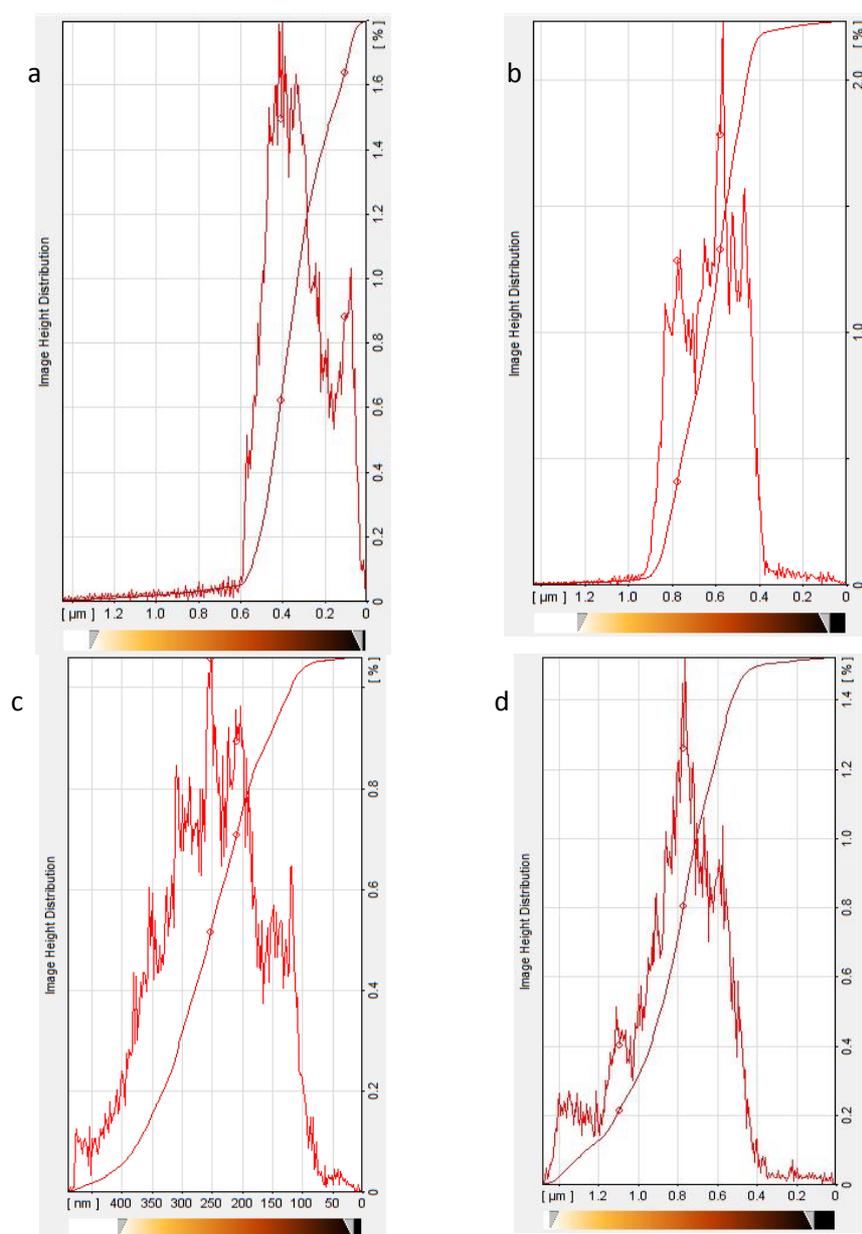
که می‌توانند باعث افزایش شدید ناهمواری سطح فیلم شوند. تصاویر سه‌بعدی سطح نانوکامپوزیت‌ها نیز این تغییرات را به خوبی نشان دادند همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، PS-3%MMT دارای سطح نسبتاً صاف است و در ادامه سطح مربوط به نمونه حاوی ۵٪ نانورس، برآمدگی و فرورفتگی بیشتری را نشان می‌دهد. افزودن نانوذرات TiO_2 تأثیر محسوسی بر پستی و بلندی‌های سطح فیلم PS-3%MMT نداشت، اما مشاهده شد که در سطح نمونه PS-5%MMT-1% TiO_2 ، فراز و نشیب‌های شدیدی شکل گرفته است. نمودارهای توزیع فراوانی ارتفاع نقاط که در شکل ۲ آورده شده است، نتایج حاصل از بررسی جدول پارامترهای زبری و تصاویر توپوگرافی را تأیید نمود. در فیلم‌های PS-MMT حاوی ۳ و ۵٪ نانورس، اغلب نقاط به ترتیب ارتفاعی در حدود ۴۰۰ و ۶۰۰ نانومتر داشتند، در حالی که در فیلم زیست‌نانوکامپوزیتی PS-MMT-1% TiO_2 این ارتفاع به ترتیب ۲۰۰ و ۸۰۰ نانومتر بود. بر اساس یافته‌های مؤلفان تاکنون هیچ مطالعه معتبر و مشخصی درباره‌ی اثر مخلوط نانوذرات MMT و TiO_2 بر مورفولوژی سطح و میزان زبری فیلم‌های بیوپلیمری گزارش نشده است. اما مطالعاتی درباره‌ی اثر افزودن نانولایه‌های MMT بر خصوصیات سطحی فیلم‌هایی مانند آگار (Rhim, 2011)، پکتین (Vartiainen *et al.*, 2010)، کیتوزان

جدول ۱- پارامترهای زبری فیلم‌های نشاسته‌ای حاوی سطوح مختلف MMT در اندازه پوشش‌های مختلف.

نمونه	Scan size	R_a (nm)	R_q (nm)
PS-3% MMT	$10 \times 10 \mu m$	۷۳/۵	۹۸/۲
	$5 \times 5 \mu m$	۳۱/۲	۳۸/۸
	$3 \times 3 \mu m$	۱۴/۰	۱۹/۱
	$1 \times 1 \mu m$	۲/۹۰	۳/۷۰
	$500 \times 500 nm$	۱/۸۴	۲/۲۹
PS-5% MMT	$10 \times 10 \mu m$	۱۱۹	۱۴۷
	$5 \times 5 \mu m$	۸۳/۸	۱۰۵
	$3 \times 3 \mu m$	۷۶/۸	۱۰۳
	$1 \times 1 \mu m$	۳۸/۷	۴۷/۷
	$500 \times 500 nm$	۶/۱۱	۹/۱۱
PS-3% MMT-1% TiO_2	$10 \times 10 \mu m$	۷۱/۱	۸۷/۴
	$5 \times 5 \mu m$	۲۰/۶	۲۶/۳
	$3 \times 3 \mu m$	۱۲/۱	۱۵/۰
	$1 \times 1 \mu m$	۲/۶۰	۳/۱۵
	$500 \times 500 nm$	۰/۷۳	۰/۹۳
PS-5% MMT-1% TiO_2	$10 \times 10 \mu m$	۱۹۰	۲۴۳
	$5 \times 5 \mu m$	۴۷/۸	۷۰
	$3 \times 3 \mu m$	۳۰/۷	۴۵/۵
	$1 \times 1 \mu m$	۲۴/۸	۳۱/۶
	$500 \times 500 nm$	۱۰/۷	۱۲/۹



شکل ۱- تصاویر توپوگرافی AFM فیلم‌های: (a) PS-3%MMT، (b) PS-5%MMT، (c) PS-3%MMT-1%TiO₂ و (d) PS-5%MMT-1%TiO₂.



شکل ۲- منحنی‌های توزیع فراوانی ارتفاع نقاط فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیت (a) PS-3%MMT و (b) PS-5%MMT، (c) PS-3%MMT-1%TiO₂ و (d) PS-5%MMT-1%TiO₂ فیلم.

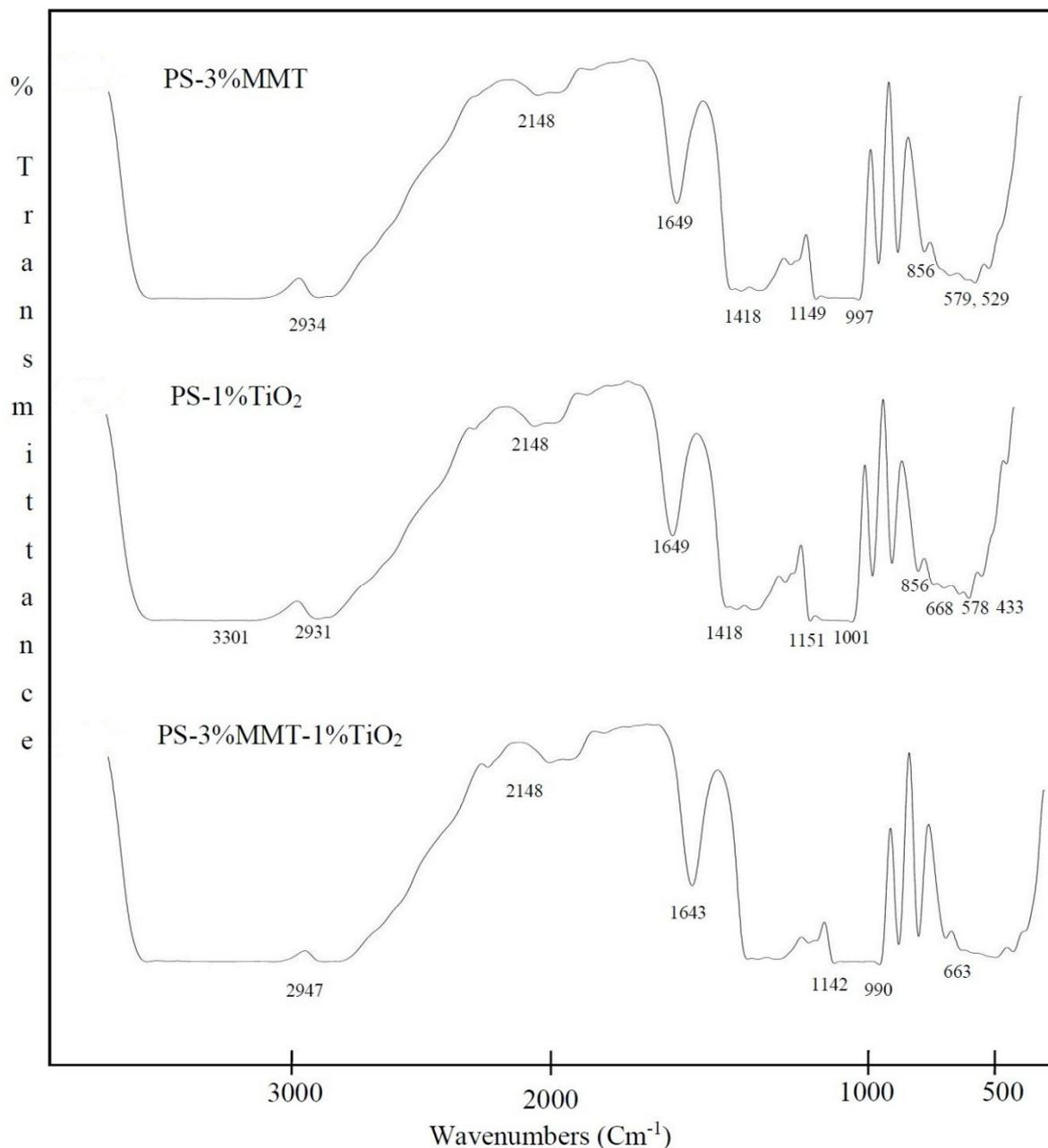
۹۹۰ در فیلم PS-MMT-TiO₂ شد. تغییرات مشاهده شده، مربوط به ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین عوامل O-H نانورس با نشاسته و یا OH⁻-Ti²⁺ است. همچنین، مطابق گزارش ارائه‌شده توسط Diaz-Visurraga و همکاران (۲۰۱۰) که طیف فروسرخ کامپوزیت کیتوزان حاوی نانولوله‌های TiO₂ را مورد مطالعه قرار دادند، جابجایی محل فرکانس‌های مرتبط با پیوندهای ذکرشده، وجود برهمکنش‌های الکترواستاتیک بین گروه‌های OH نشاسته و نانورس با Ti⁺ را نشان می‌دهد. افزایش میزان جذب باندهای مربوط به پیوندهای خمشی C-

از سوی دیگر، تأثیر TiO₂ بر پیوند مربوط به اتصال اجزاء با O-H ملکول‌های آب در ۱۶۴۹ cm⁻¹ مشاهده شد، به طوری که با افزودن TiO₂، جذب پرتوهای IR این پیوند به ۱۶۴۳ cm⁻¹ منتقل گردید. نتایج مشابهی توسط Bruna و همکاران درباره اثر Cu²⁺-MMT بر ساختار شیمیایی نانوکامپوزیت LDPE ارائه شده است (Bruna et al., 2012).

حضور نانوذرات TiO₂ موجب کاهش عدد موجی پیک مربوط به پیوند C-O-H از ۱۱۵۱ cm⁻¹ و ۱۰۰۱ cm⁻¹ به ۱۱۴۲ cm⁻¹ و

TiO₂ نیز وجود پیوندهای هیدروژنی بین عوامل Al-OH و Si-OH نانورس با نشاسته و یا Ti²⁺-OH و همچنین برهمکنش‌های الکترواستاتیک بین گروه‌های OH نشاسته و نانورس با TiO₂ را تأیید نمود.

H و O در طیف PS-MMT-TiO₂ نسبت به طیف PS-TiO₂ نیز فرضیه‌ی پیشین را تأیید نمود. افزایش پهنای باند و شدت جذب در ناحیه ۵۰۰-۸۰۰ Cm⁻¹ طیف فیلم PS-MMT-TiO₂ نشان‌دهنده‌ی برقراری پیوند بین نانوذرات با یکدیگر و با ماتریس پلیمری است. مقایسه‌ی طیف فیلم PS-MMT-TiO₂ با طیف فیلم PS-



شکل ۳- الگوی طیف فرسرخ زیست‌نانوکامپوزیت نشاسته حاوی MMT، TiO₂ و مخلوط آن‌ها.

(2009 و PVA-MMT-ZnO (ملک‌پور و مدنی، ۲۰۱۲) گزارش شده است. این نتیجه در پژوهش Tang و همکاران (۲۰۰۹)، نیز مشاهده شد. آنها نشان دادند که با افزودن مخلوط نانورس و نانوذرات

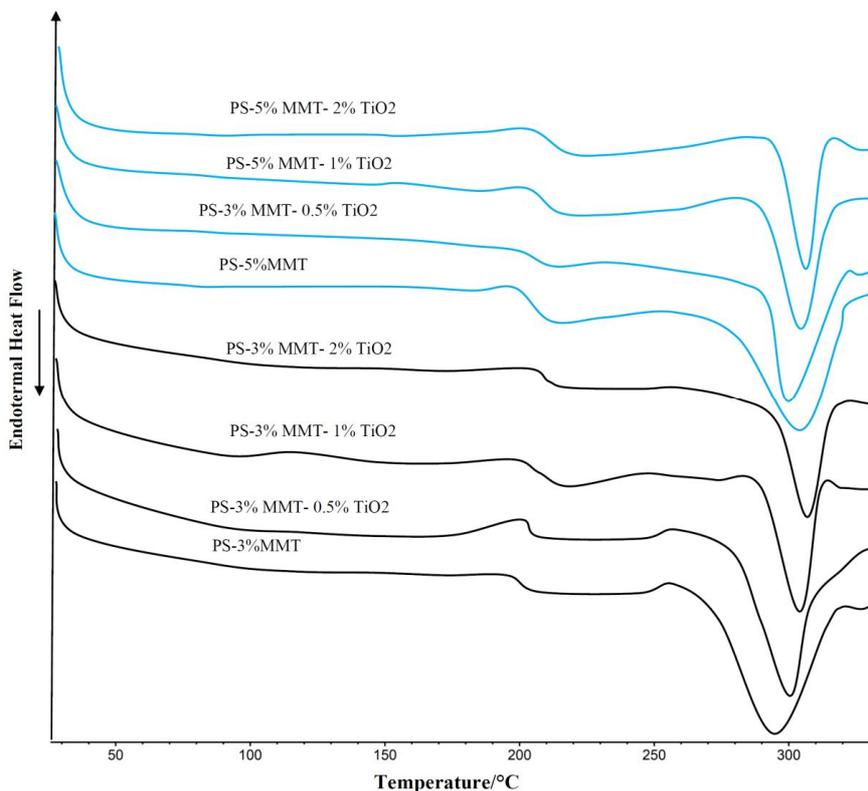
نتایج مشابهی درباره‌ی تغییر محل پیک جذب فرکانس‌های پرتوهای فرسرخ توسط پیوندهای موجود در ساختار ترکیب نانوکامپوزیتی (Bin Ahmad *et al.*, Chitosan-MMT-Ag

فیلم‌های نشاسته دارای ۳٪ و ۵٪ نانورس، به ترتیب یک پیک در دمای ۲۹۵/۱ و ۳۰۴/۶ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهند، که مربوط به دمای ذوب نواحی بلوری تشکیل شده طی آماده‌سازی فیلم و پدیده برگشت است. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است؛ با الحاق نانوذرات TiO_2 به ساختار ماتریس فیلم‌های زیست‌نانو-کامپوزیت، دمای ذوب تغییر یافت. با افزودن ۰/۵ تا ۲ درصد نانوذره TiO_2 به فیلم PS-3%MMT و PS-5%MMT، پیک ذوب فیلم‌ها به ترتیب از ۳۰۰ به ۳۰۶/۳ و از ۳۰۱/۹ درجه سانتی‌گراد به ۳۰۲/۱ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. دمای ذوب، به درجه کامل بودن ساختار بخش‌های بلوری مربوط است و هر چه ساختار تکامل یافته‌تر باشد؛ دمای ذوب بالاتر خواهد بود. نانوذرات می‌توانند با تأثیر در نوع بلورهای تشکیل یافته در نواحی آمورف قابل بلور شدن، موجب افزایش یا کاهش دمای ذوب شوند. نکته قابل توجه حاصل از نتایج به دست آمده، مشاهده عدم تأثیر چشمگیر و تفاوت اثر افزودن TiO_2 بر دمای ذوب فیلم‌های PS-5%MMT در مقایسه با فیلم‌های PS-3%MMT است.

TiO_2 به فیلم کیتوزان و تشکیل ساختار جدید نانو کامپوزیت، جذب فرکانس‌های IR باندهای هیدروژنی در اعداد موجی پایین‌تر صورت گرفته است. Deka و Maji (۲۰۱۱) نیز طی پژوهشی در مورد خواص نانو ساختاری پلیمر چوب حاوی مخلوط نانولایه‌های رس و نانوذرات TiO_2 ، کاهش شدت جذب و تغییر محل پیک‌های مربوط به پیوندهای هیدروژنی نسبت به طیف جذب IR پلیمر حاوی نانورس و قرار گرفتن آن در فرکانس‌های پایین‌تر به دلیل تشکیل پیوند بین گروه‌های عاملی نانوذرات با یکدیگر و با ماتریس بیوپلیمری و تشکیل ساختاری نوین را گزارش نمودند.

خواص حرارتی

یکی از مهم‌ترین خواص مورد بررسی در فرآوری و کاربرد تکنولوژیکی نانو کامپوزیت‌های مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی، ویژگی‌های حرارتی می‌باشد. ویژگی‌های حرارتی از جنبه‌های شکل-پذیری، مقاومت و پایداری حرارتی و نفوذ پذیری فیلم‌های پلیمری اهمیت زیادی دارد. در شکل ۴ منحنی‌های DSC فیلم‌های نشاسته حاوی سطوح مختلف MMT و مخلوط آن با TiO_2 آورده شده است.



شکل ۴- منحنی‌های DSC زیست نانو کامپوزیت نشاسته نرم‌شده حاوی سطوح مختلف MMT و TiO_2 .

شده است. این نتیجه، با پژوهش Li و همکاران (۲۰۰۷) و Zhuang و همکاران (۲۰۰۹) به ترتیب درباره اثر TiO_2 روی دمای ذوب فیلم‌های نانو کامپوزیت پلی کاپرولاکتون و پلی لاکتید مطابقت دارد.

افزایش دمای ذوب فیلم‌های PS-3%MMT نشان داد که افزودن و توزیع مناسب نانوذرات معدنی TiO_2 ، موجب کاهش تحرک زنجیرهای آمیلوپکتین و تشکیل نواحی بلوری بیشتر در ماتریس فیلم

TiO₂ شده و بالطبع موجب عدم پخش فیزیکی نانوذرات TiO₂ در ماتریس فیلم می‌گردد. در این حالت، سازگاری بین فازهای مختلف نانوکامپوزیت کاهش یافته و دمای انتقال شیشه‌ای به مقدار جزئی افزایش می‌یابد. گزارش‌های مشابهی توسط سایر پژوهشگران درباره اثر نانوذرات TiO₂ بر T_g فیلم‌های پلی‌لاکتیداسید (Zhuang *et al.*, 2007) و اتیلن‌وینیل‌الکل (EVOH) (Jimenez Rioboo *et al.*, 2008) ارائه شده است. همچنین بررسی انجام‌شده توسط Liao و Wu (۲۰۰۹) نشان داد، افزایش محتوی نانوذرات در فیلم زیست-تخریب‌پذیر پلی‌لاکتید-نشاسته-TiO₂ موجب افزایش دمای انتقال شیشه‌ای شده است. این پژوهشگران بیان کردند، افزایش غلظت TiO₂ تا حد معینی باعث افزایش T_g فیلم حاصل می‌شود، بیشترین T_g در غلظت ۱۰ درصد TiO₂ به دست آمد و در بیشتر از سطح ۱۰ درصد TiO₂، دمای انتقال شیشه‌ای مجدداً کاهش یافت. علیرغم نتایج بدست‌آمده در پژوهش حاضر و مطالعات انجام‌شده توسط سایر محققان مبنی بر اثر چشمگیر افزودن نانوذرات TiO₂ بر خواص گرمایی فیلم‌های بیوپلیمری، نتایج بررسی‌های برخی از پژوهشگران می‌دهد، که حضور و افزایش محتوی TiO₂ در ساختار پلی‌لاکتیداسید (PLA) موجب تغییر دماهای ذوب نواحی بلوری و انتقال شیشه‌ای مربوط به نواحی آمورف نشده است (Zhu *et al.*, 2011; Buzarovska and Grozdanov, 2012).

رنگ‌سنجی

شفافیت و رنگ از ویژگی‌های ظاهری مطلوب برای فیلم‌های مورد استفاده در صنایع بسته‌بندی بشمار می‌روند؛ زیرا به‌عنوان خواص پایه ماده جدید تولیدشده در نظر گرفته می‌شوند و در پذیرش محتوی بسته توسط مصرف‌کننده نقش به‌سزایی دارند (داداشی و همکاران، ۲۰۱۲). نشاسته فیلم‌هایی غیرشفاف تولید می‌کند که رنگ متمایل به زرد، حالتی کدر و بدون جلا دارند. بنابراین، بسته‌بندی مواد غذایی با چنین پوششی نمی‌تواند مقبولیت مناسب داشته و رضایت مصرف‌کننده را جلب نماید. از آنجا که اغلب نانوذرات دارای ابعاد کمتر از طول موج پرتوهای نوری هستند، انتظار می‌رود با پراکنش مناسب نانوذرات به-ویژه نانولایه‌های MMT در بستر پلیمر، تغییر محسوسی در شفافیت فیلم مشاهده نشود. البته اگر پراکنش به‌خوبی انجام نشده باشد یا نانوذرات مانند TiO₂ موجب بروز رنگ در نانوکامپوزیت حاصل شوند، تغییر شفافیت اجتناب‌ناپذیر است.

پارامترهای رنگی هانتر (L^* ، a^* و b^*)، اختلاف رنگ کلی (ΔE)، اندیس زردی (YI) و اندیس سفیدی (WI) فیلم‌های نشاسته حاوی درصد‌های مختلف MMT و TiO₂ مورد مطالعه در این پژوهش در جدول ۲ نشان داده شده است.

پژوهش‌های انجام‌شده، گزارش شده است که افزایش غلظت TiO₂، پایداری بلورهای تشکیل شده در ساختار فیلم را در برابر ذوب‌شدن افزایش داده است. اما همانطور که مشاهده گردید، روند مشابه این رفتار در فیلم‌های PS-5%MMT دیده نشد و افزایش میزان TiO₂ سبب انتقال پیک ذوب به دماهای کمتر گردید. نتایج مطالعات انجام-شده درباره اثر نانوذرات TiO₂ روی دمای ذوب فیلم‌های پلی-لاکتیداسید (Nakayama and Hayashi, 2007)، پلی‌لاکتید-نشاسته (Liao and Wu, 2008)، نتیجه اخیر به‌دست‌آمده را تأیید نمودند. آنها دلیل این پدیده این‌گونه بیان کردند که، نانوذرات TiO₂ به‌عنوان ناخالصی عمل نموده و با ایجاد مزاحمت و ممانعت از انتقال زنجیرها به سطح بلورها، سبب بروز اختلال در تشکیل، گسترش و رشد بلورهای منظم و منسجم در ساختار ماتریس بیوپلیمری و بالطبع کاهش دمای ذوب می‌شوند. با توجه به نتایج بدست‌آمده در این پژوهش و مقایسه آن با نتایج و دلایل گزارش‌شده توسط سایر محققان، به نظر مؤلفان، بروز این رفتار بدلیل توزیع غیریکنواخت و انبوه‌شدن نانوذرات در حضور مقادیر زیاد آنها است. در این حالت؛ به-علت کاهش نسبت ابعادی و کاهش سازگاری بین پرکننده‌ها غیرآلی و ماتریس آلی، نانوذرات قادر به ایفای مناسب نقش هسته‌زایی، اصلاح جهت‌گیری زنجیرها در ماتریس بیوپلیمری نشاسته و ایجاد بلورهای منظم دارای دمای ذوب زیاد نبوده است.

پارامتر مهم دیگر در بررسی خواص حرارتی، انتقال فاز مرتبه دوم یا دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) مربوط به نواحی بی‌شکل نانوبیوپلیمر است. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، انتقال شیشه‌ای فیلم‌های نشاسته دارای ۳٪ و ۵٪ نانورس، به‌ترتیب در دمای ۱۹۹/۱ و ۲۰۳/۵ درجه سانتی‌گراد رخ داده است. با افزایش محتوی TiO₂ در هر یک از نانوکامپوزیت‌های ذکر شده، T_g افزایش یافت؛ این افزایش نشان داد، نانوذرات TiO₂ در نواحی بی‌شکل نیز ساختار فشرده و منسجمی را تشکیل داده‌اند. افزایش تعداد و شدت پیوندهای هیدروژنی و الکترواستاتیک بین نانوذرات TiO₂ و MMT با هم و با زنجیرهای نشاسته، موجب کاهش فضای خالی، حجم آزاد و در نتیجه کاهش تحرک موضعی زنجیرهای آمیلوپکتین در ماتریس بیوپلیمری شده و T_g افزایش یافته است. البته همان‌طور که مشاهده گردید؛ در حضور مقادیر زیاد MMT (سطح ۵٪)، روند و شدت افزایش T_g ناشی از افزایش غلظت TiO₂ در فیلم‌های PS-5%MMT-TiO₂ مشابه فیلم‌های PS-3%MMT-TiO₂ نیست. زیرا افزایش T_g به تعداد گروه‌های عاملی ماتریس پلیمری و MMT که قادر به ایجاد پیوند با گروه‌های هیدروکسیل (-OH) موجود در سطح نانوذرات TiO₂ هستند، بستگی دارد. افزایش محتوی نانورس ضمن افزایش احتمال تجمع و کلوخه‌شدن MMT، سبب اشغال و کاهش تعداد محل‌های فعال زنجیرهای نشاسته جهت واکنش با

جدول ۲- پارامترهای رنگی فیلم‌های نشاسته نرم‌شده حاوی درصد‌های مختلف مخلوط MMT و TiO₂.*

WI	YI	ΔE	b*	a*	L*	ترکیب فیلم
۲۸/۲۴±۰/۱۹ ^a	-۲/۲۴±۰/۰۹ ^a	۲۶/۸۹±۰/۱۹ ^a	-۰/۴۴±۰/۰۳ ^a	-۰/۱۱±۰/۰۱ ^a	۲۸/۲۴±۰/۱۹ ^a	PS-3%MMT
۴۱/۵۳±۰/۳۹ ^b	-۲۹/۸۸±۰/۳ ^d	۴۱/۶۹±۰/۴ ^b	-۸/۸۳±۰/۰۸ ^c	-۰/۹۴±۰/۰۴ ^b	۴۲/۳۱±۰/۴ ^b	PS-3%MMT-0.5%TiO ₂
۴۹/۷۲±۰/۸۱ ^c	-۲۷/۲۳±۰/۷ ^c	۵۰/۱۹±۰/۷۷ ^c	-۹/۶۵±۰/۱۳ ^d	-۱/۷۹±۰/۱ ^c	۵۰/۶۹±۰/۸ ^c	PS-3%MMT-1%TiO ₂
۵۹/۲۲±۰/۹۵ ^d	-۱۸/۹۲±۰/۱ ^b	۵۹/۲۲±۰/۸۸ ^d	-۷/۹۵±۰/۲۹ ^b	-۲/۳۱±۰/۰۲ ^d	۶۰/۰۷±۰/۹ ^d	PS-3%MMT-2%TiO ₂
۲۸/۸۶±۰/۰۷ ^a	-۲/۴۵±۰/۰۱ ^a	۲۷/۵۱±۰/۰۷ ^a	-۰/۴۹±۰/۰۲ ^a	-۰/۱۲±۰/۰۱ ^a	۲۸/۸۶±۰/۰۷ ^a	PS-5%MMT
۴۲/۲۶±۰/۰۴ ^b	-۲۹/۷±۰/۵ ^d	۴۲/۴۵±۰/۰۸ ^b	-۸/۹۳±۰/۱۶ ^c	-۱/۰۰±۰/۱۳ ^b	۴۲/۹۶±۰/۰۷ ^b	PS-5%MMT-0.5%TiO ₂
۵۰/۳۷±۰/۱۸ ^c	-۲۶/۵۷±۰/۱ ^c	۵۰/۸۱±۰/۱۸ ^c	-۹/۵۴±۰/۱۳ ^d	-۱/۸۵±۰/۰۹ ^c	۵۱/۳۳±۰/۸۵ ^c	PS-5%MMT-1%TiO ₂
۵۹/۶۸±۰/۱۳ ^d	-۱۸/۶۶±۰/۱۳ ^b	۵۹/۶۷±۰/۱۰ ^d	-۷/۹۵±۰/۲ ^b	-۲/۳۴±۰/۰۲ ^d	۶۰/۵۳±۰/۰۷ ^d	PS-5%MMT-2%TiO ₂

*مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، حروف غیر یکسان در هر ستون علامت اختلاف معنادار است.

همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، با افزایش غلظت TiO₂ در فیلم‌های حاوی ۳ و ۵٪ نانورس، ΔE و WI فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی بطور معنی‌داری افزایش یافتند که نشان‌دهنده تغییر شفافیت و وضوح فیلم‌ها در اثر افزودن TiO₂ می‌باشد. از جمله پارامترهای توصیفی دیگر، می‌توان به اندیس زردی (YI) اشاره نمود. برخلاف ΔE و اندیس سفیدی، اندیس زردی در فیلم حاوی ۳٪ نانورس با افزایش غلظت TiO₂ از صفر به ۰/۵٪، بطور مشخصی از ۲/۲۴- به ۲۹/۸۸- کاهش و با افزایش غلظت TiO₂ به ۲٪، به ۱۸/۹۲- افزایش یافت. این روند در تغییرات اندیس زردی فیلم‌های حاوی ۵٪ نانورس با افزایش غلظت TiO₂ از صفر به ۲٪، نیز مشاهده شد. مطابق نتایج به‌دست آمده، اختلاف قابل‌توجهی بین تغییرات پارامترها و شاخص‌های رنگی نمونه‌های بدون TiO₂ و ۰/۵ درصد TiO₂ در مقایسه با فیلم‌های حاوی مقادیر بیشتر TiO₂ وجود دارد. ایجاد این تفاوت چشمگیر در اثر افزودن مقادیر کم TiO₂ به ماتریس پلیمری، حاکی از خاصیت سفیدکنندگی خیلی قوی TiO₂ است. به‌طور کلی، دلیل تغییرات ایجادشده در خصوصیات رنگی فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی تولید شده، را می‌توان به دو اثر همزمان تفرق نور به‌دلیل شاخص پراکندگی زیاد نور (>۲/۵) توسط نانوذرات TiO₂ و پوشاندن مؤثر رنگ‌های سرخ و زرد توسط رنگ سفید آن نسبت داد. در پژوهشی Tasakaya و همکاران (۲۰۱۰) اثر نانوذرات TiO₂ در غلظت‌های صفر تا ۰/۵ درصد را بر خواص رنگی پروتئین‌های ژلاتین بررسی و گزارش کردند که افزودن نانوذرات TiO₂ به مقدار ۰/۱ درصد نیز موجب افزایش معنی‌دار روشنایی و سفیدی و کاهش سرخی و زردی محصول شده است. مطالعه Bruna و همکاران (۲۰۱۲) روی نانوکامپوزیت LDPE-MMT-Cu²⁺ نیز نشان داد، که با افزایش محتوی نانوذرات میزان روشنایی کاهش و میزان اختلاف رنگ کلی افزایش می‌یابد. با توجه به نتایج می‌توان استنباط کرد که در فیلم‌های PS-MMT-TiO₂، بدلیل قدرت زیاد سفیدکنندگی نانوذرات TiO₂ و عدم تأثیر نانولایه‌های MMT دارای ساختار ورقه‌ای بر شفافیت و پارامترهای رنگی؛ غلظت نانوذرات TiO₂ حتی در مقادیر بسیار کم،

مطابق انتظار، افزودن MMT اثر معنی‌داری بر پارامترها و شاخص‌های رنگی فیلم زیست‌نانوکامپوزیت نداشت. این مسئله به ماهیت ورقه‌های MMT که دارای ضخامت ۱ nm هستند، مربوط می‌شود و نشان داد که توزیع به‌خوبی انجام شده است. نتایج مشابهی در مورد تأثیر نانورس در غلظت‌های کم بر شفافیت فیلم آگار گزارش شده است (Rhim *et al.*, 2011). پژوهش‌های سایر محققان درباره‌ی اثر MMT بر شفافیت و پارامترهای رنگی فیلم‌های کربوکسی‌متیل سلولوز (فخری و همکاران، ۲۰۱۲) و پلی‌لاکتیک‌اسید (داداشی و همکاران، ۲۰۱۲) نشان داد که افزودن نانورس تغییری در پارامتر L* فیلم‌ها ایجاد نکرده، اما مقدار زردی را افزایش داده است. برخلاف این نتایج، نوشیروانی و همکاران (۲۰۱۲) با افزودن MMT به نشاسته، ضمن عدم مشاهده تغییر وضوح و روشنایی نمونه‌ها، شاهد کاهش زردی فیلم‌ها بودند.

با افزودن نانوذرات TiO₂، تغییرات قابل ملاحظه‌ای در ویژگی‌های رنگی فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی مشاهده گردید. در فیلم‌های حاوی ۳٪ نانورس، با افزودن ۰/۵ و ۱٪ نانوذره‌ی TiO₂، به‌ترتیب ۴۹/۴٪ و ۷۹/۵٪ افزایش در میزان روشنایی ایجاد شد و فیلم PS-TiO₂-2%MMT-3% بیشترین افزایش در میزان روشنایی یعنی ۱۱۲/۷٪ را نشان داد. این افزایش در فیلم‌های حاوی ۵٪ نانورس و ۰/۵ و ۱٪ نانوذرات TiO₂، به ترتیب ۴۸/۸، ۷۷/۸ و ۱۰۹/۷٪ بود. در تمامی این فیلم‌ها با افزایش TiO₂، پارامترهای a* و b* کاهش یافتند. به‌عبارتی دیگر، میزان روشنایی و سفیدی فیلم‌ها افزایش یافته و از میزان سرخی و زردی آنها کاسته شد. برای توصیف بهتر تغییرات رنگی در اثر افزودن TiO₂ می‌توان از پارامترهای دیگر استفاده کرد. از مهم‌ترین این پارامترها اختلاف رنگ کلی (ΔE) و اندیس سفیدی (WI) می‌باشند. در واقع ΔE، میزان انحراف رنگ نمونه از صفحه استاندارد را نشان داده و معیار سنجش تغییر شفافیت فیلم‌ها است. هرچه ΔE یک نمونه کمتر باشد، نشان‌دهنده شفاف‌تر و نزدیک‌تر بودن پارامترهای رنگی آن فیلم به پارامترهای صفحه استاندارد است (قنبرزاده و همکاران، ۲۰۱۰).

مهم‌ترین فاکتور تعیین‌کننده‌ی رنگ فیلم‌ها است.

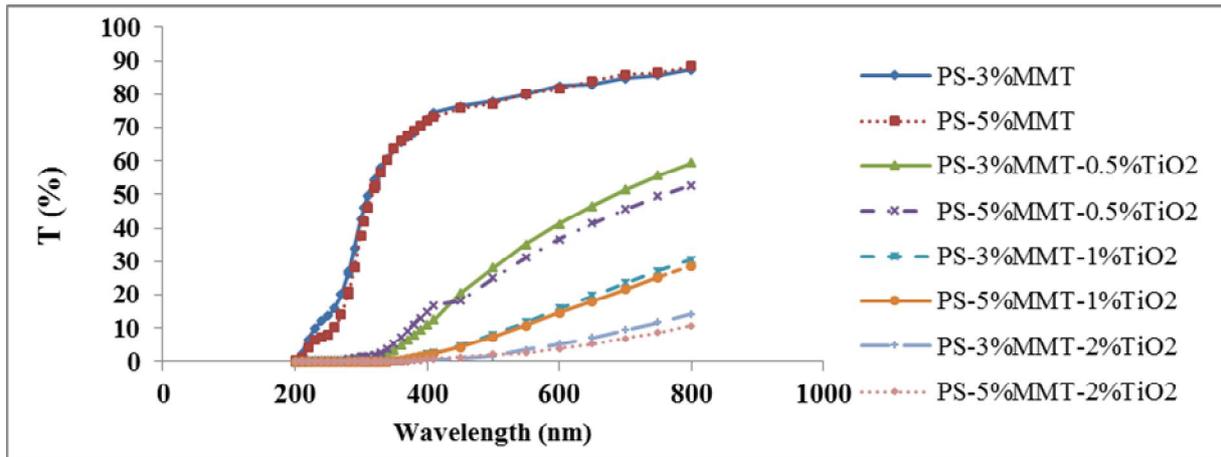
میزان عبور نور و کدورت فیلم‌ها

برخی از محصولات غذایی به‌حدی نسبت به نور حساسند که رنگ، بو و طعم آنها با حداقل اکسیداسیون حاصل از تأثیرات نور، دچار تغییرات شدیدی می‌شود، بنابراین محافظت از محتویات بسته در برابر ورود نور ضروری به‌نظر می‌رسد. از بازدارنده‌های قوی در برابر اثرات پرتوهای مضر نور فرابنفش می‌توان به اکسیدهای فلزی و بویژه TiO_2 اشاره کرد. از TiO_2 می‌توان در ترکیب پلیمرهای بسته‌بندی مواد غذایی به‌منظور حفاظت از محتویات بسته در برابر اکسیداسیون نوری استفاده نمود. تصاویر فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی حاوی

درصدهای مختلف نانورس و TiO_2 در شکل ۵ نشان داده شده است. مشاهده شد که افزایش غلظت نانورس تأثیری بر ظاهر فیلم‌ها ندارد و فیلم‌های حاصل شفاف هستند، اما نمونه‌های دارای ۰/۵ درصد TiO_2 نیمه‌مات و فیلم‌های حاوی ۲ درصد TiO_2 کاملاً مات و دارای رنگ سفید بودند. علت افزایش کدورت فیلم‌های نانوکامپوزیتی، ماهیت نانوذرات معدنی و عدم حلالیت آنها در ماتریس آلی بود. با این وجود، MMT به‌علت حضور در غلظت‌های پایین (کمتر از ۶ درصد) و کوچکتر بودن ضخامت لایه‌ها از طول موج پرتوهای نوری، قادر به بازتاب و شکستن نور نبود (Bruna *et al.*, 2012). اما مقادیر زیاد ضریب شکست نور نانوذرات TiO_2 ، و ماهیت رنگی آن سبب کدر و مات‌شدن فیلم‌ها حتی در محتوی کم گردید.



شکل ۵- ظاهر فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی نشاسته‌ای حاوی مخلوط نانوذرات MMT و TiO_2 : (a) PS-3% MMT: TiO_2 و (b) PS- 3% MMT-0.5% TiO_2 ، (c) PS-3% MMT-1% TiO_2 ، (d) PS-3% MMT-2% TiO_2 ، (e) PS-5% MMT، (f) PS-5% MMT-0.5% TiO_2 ، (g) PS-5% MMT-1% TiO_2 و (h) PS-5% MMT-2% TiO_2 .



شکل ۶- الگوی عبور امواج طیف UV-Vis فیلم‌های نشاسته نرم‌شده حاوی سطوح مختلف مخلوط MMT و TiO₂.

توزیع نانولایه‌ها بستگی دارد. با افزایش محتوی این دو اکسید فلزی در ساختار شیمیایی نانورس، میزان عبور اشعه UV کاهش می‌یابد. نانورس‌های Smectite غنی از Al مانند MMT دارای میزان عبور UV کمتری نسبت به انواع حاوی از Fe هستند (Hoang-Minh *et al.*, 2010, 2011)

افزودن ۰/۵ درصد نانوذره TiO₂، به فیلم PS-3%MMT، به ترتیب موجب کاهش عبور پرتوهای UV نواحی A، B و C به ۰/۲۸، ۰/۷۹ و ۵/۱۹ درصد گردید. افزودن مقادیر بیشتر TiO₂ بر عبور پرتوهای UV طیف‌های C و B تأثیر معنی‌داری نداشت، اما موجب کاهش معنی‌دار عبور امواج در ناحیه A شد. به‌طوری‌که میزان پرتوهای عبوری PS-3%MMT-1%TiO₂ و PS-5%MMT-1%TiO₂ به ترتیب از ۵/۱۹ به ۰/۵۱ درصد و از ۴/۸ به ۰/۵۳ درصد کاهش یافت.

شکل ۶ تغییرات درصد نور تابشی عبوری از فیلم‌های نشاسته حاوی سطوح مختلف نانورس و TiO₂ در دامنه طول موج ۸۰۰-۲۰۰ را نشان می‌دهد. به‌منظور بررسی دقیق‌تر و مقایسه اثرات نانورس و TiO₂ بر میزان عبور پرتوهای نواحی مختلف نوری، طول موج‌های ۲۴۰، ۳۰۰، ۳۶۰، ۶۰۰ nm به‌ترتیب به عنوان شاخص طول موج‌های نواحی UV-C (۲۸۰-۲۰۰ nm)، UV-B (۲۸۰-۳۲۰ nm) و UV-A (۳۲۰-۴۰۰ nm) و نور مرئی (۴۰۰-۸۰۰ nm) در نظر گرفته شده و نتایج مربوط به میزان عبور نور آنها و کدورت فیلم‌ها در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانورس در ماتریس نشاسته، درصد عبور امواج ناحیه UV-C و ناحیه UV-B بطور معنی‌داری کاسته شده است، اما تغییری در میزان عبور امواج UV-A ایجاد نشده است. میزان توانایی نانورس در بلوکه نمودن پرتوهای UV به دو پارامتر محتوی Al₂O₃ یا Fe₂O₃ و نحوه

جدول ۳- میزان عبور پرتوهای طیف‌های مختلف نوری و کدورت فیلم‌های PS حاوی مخلوط MMT و TiO₂.*

Opacity	Visible (600 nm) T (%)	UVA (360 nm) T (%)	UVB (300 nm) T (%)	UVC (240 nm) T (%)	ترکیب فیلم
۰/۴۳±۰/۰۴ ^a	۸۲/۶۰±۱/۷۰ ^a	۶۵/۷۶±۳/۱۴ ^a	۴۲/۷۵±۴/۰۳ ^a	۱۲/۴۹±۲/۷۶ ^a	PS-3%MMT
۲/۰۰±۰/۰۶ ^b	۴۱/۳۲±۱/۵۰ ^b	۵/۱۹±۰/۵۳ ^b	۰/۷۹±۰/۲۳ ^c	۰/۲۸±۰/۰۶ ^c	PS-3%MMT-0.5%TiO ₂
۳/۹۷±۰/۱۸ ^d	۱۶/۰۰±۳/۱۴ ^d	۰/۵۱±۰/۲۳ ^c	۰/۰۲±۰/۰۰ ^c	۰/۰۲±۰/۰۰ ^c	PS-3%MMT-1%TiO ₂
۶/۷۷±۰/۱۶ ^f	۵/۳۰±۰/۵۲ ^e	۰/۰۵±۰/۰۳ ^c	۰/۰۲±۰/۰۰ ^c	۰/۰۲±۰/۰۰ ^c	PS-3%MMT-2%TiO ₂
۰/۵۲±۰/۰۵ ^a	۸۱/۵۷±۰/۵۰ ^a	۶۴/۶۰±۴/۲۳ ^a	۳۸/۱۳±۵/۶۰ ^b	۷/۸±۲/۷۸ ^b	PS-5%MMT
۲/۳۲±۰/۰۴ ^c	۳۶/۶۷±۱/۸۶ ^c	۴/۸±۰/۷۷ ^b	۱/۳۳±۰/۱۸ ^c	۰/۲۹±۰/۰۹ ^c	PS-5%MMT-0.5%TiO ₂
۴/۳۲±۰/۳۶ ^e	۱۴/۵۳±۲/۵۸ ^d	۰/۵۲±۰/۲۲ ^c	۰/۰۳±۰/۰۱ ^c	۰/۰۲±۰/۰۰ ^c	PS-5%MMT-1%TiO ₂
۷/۰۲±۱/۳۱ ^g	۳/۸۸±۱/۴۳ ^e	۰/۰۸±۰/۰۴ ^c	۰/۰۲±۰/۰۰ ^c	۰/۰۲±۰/۰۰ ^c	PS-5%MMT-2%TiO ₂

*مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، حروف غیریکسان در هر ستون علامت اختلاف معنادار است.

درصدگردید. افزودن مقادیر بیشتر TiO₂ موجب کاهش معنی‌دار درصد عبور امواج شد، به‌طوری‌که میزان پرتوهای عبوری PS-3%MMT-1%TiO₂ و PS-5%MMT-1%TiO₂ به ترتیب به ۵/۳ و ۳/۸۸ درصد کاهش یافت. با توجه به مشاهده اختلاف معنی‌دار

افزودن نانوذرات TiO₂ به ترکیب فیلم‌های حاوی ۳ و ۵ درصد MMT، موجب کاهش معنی‌دار درصد عبور پرتوهای نوری در طیف مرئی شده و افزودن ۰/۵ درصد نانوذره TiO₂، به فیلم دارای ۳ و ۵ درصد نانورس، به ترتیب موجب کاهش عبور پرتوها به ۴۱/۳۳ و ۳۶/۷

زیست‌نانو کامپوزیت، برقراری برهمکنش‌های هیدروژنی و الکترواستاتیک بین ترکیبات غیرآلی TiO_2 و نانورس با گروه‌های عاملی ماتریس آلی پلیمری را نشان داد. در نتایج میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)، پخش مناسب نانو پرکننده‌ی TiO_2 در درون شبکه پلیمری قابل مشاهده است. تصاویر توپوگرافی سطح فیلم‌ها نشان داد که زبری سطح تحت تأثیر نانوذرات افزوده شده قرار گرفته است. با توجه به نتایج آزمون خواص حرارتی، فیلم‌های PS-MMT- TiO_2 دارای دمای ذوب و T_g بیشتری نسبت به فیلم PS-MMT بود. همچنین، فیلم‌های زیست‌نانو کامپوزیتی حاوی نانورس و TiO_2 تولید شده در این پژوهش دارای توانایی لازم جهت ممانعت از نفوذ پرتوهای نوری مضر به درون بسته‌های محتوی مواد خوراکی را نشان دادند، اما اثر TiO_2 بر کاهش عبور امواج نوری بیشتر از MMT است، به طوری که پلیمر دارای ۱٪ نانوذره TiO_2 (حداکثر مقدار توصیه شده FDA در مواد غذایی)، قادر به بلوکه نمودن ۷۷/۲٪ پرتوهای نور مرئی و بیش از ۹۹٪ امواج فرابنفش بود.

قدردانی

از ستاد ویژه فناوری نانو برای تقبل بخشی از هزینه‌های این پژوهش سپاس‌گزاری می‌شود. مولفان کمال تشکر از شرکت مهارفن ابزار (تهران) و پژوهشگاه پلیمر دانشگاه صنعتی سهند تبریز به ترتیب برای انجام آزمایش‌های AFM و DSC را دارند.

درصد عبور پرتوهای UV فیلم‌های حاوی مخلوط نانوذرات MMT و TiO_2 با فیلم‌های حاوی MMT و عدم وجود اختلاف با فیلم‌های دارای نانوذرات TiO_2 ، پتانسیل و توانایی بسیار زیاد نانوذرات فلزی در بلوکه نمودن امواج مخرب UV و محافظت از محتویات بسته در مقابل زیان‌های ناشی از آنها کاملاً مشخص گردید. عدم عبور پرتوهای UV از فیلم‌های زیست‌نانو کامپوزیتی، بدلیل جذب شدید یا تفرق این پرتوها توسط نانوذرات TiO_2 است. مکانیزم جذب پرتوهای UV توسط TiO_2 ، استفاده از فوتون‌های پراثری نوری دارای طول موج کمتر از ۳۵۰ nm برای افزایش تحرک الکترون‌های لایه ظرفیت و انتقال آنها به لایه پیوندی می‌باشد (ملک‌پور و براتی، ۲۰۱۱). نتایج بدست‌آمده با گزارش ارائه شده توسط Zhou و همکاران درباره اثر نانوذرات بر کدورت و میزان عبور پرتوهای نوری فیلم پروتئین آب‌پنیر مطابقت دارد (Zhou et al., 2009). در پژوهشی دیگر، Li و همکاران ضمن تأیید این نتایج، نشان دادند که کاهش میزان عبور پرتوهای نواحی UV-A و UV-B از فیلم نانو کامپوزیتی WPI- TiO_2 نسبت به افزایش غلظت TiO_2 از رابطه لگاریتمی مرتبه اول پیروی می‌کند (Li et al., 2011).

نتیجه‌گیری

با استفاده از روش قالب‌ریزی، زیست‌نانو کامپوزیت‌های PS-MMT و MMT- TiO_2 تهیه شدند. بررسی ساختار ملکولی

منابع

- Almasi, H., Ghanbarzadeh, B. and Entezami, A.A. 2010. Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46, 1, 1-5.
- Al-Sagheer, F.A. and Merchant, S. 2011. Visco-elastic properties of chitosan-titania nano-composites. *Carbohydrate Polymer*, 85, 356-362.
- Bin Ahmad, M., Shameli, K., Darroudi, M., Yunus W.M.Z.W. and Ibrahim, N.A. 2009. Synthesis and Characterization of Silver/Clay/Chitosan Bionanocomposites by UV-Irradiation Method. *American Journal of Applied Sciences*, 6, 12, 2030-2035.
- Bruna, J.E., Penaloza, A., Guarda, A., Rodriguez, F. and Galotto, M.J. 2012. Development of MtCu²⁺/LDPE nanocomposites with antimicrobial activity for potential use in food packaging. *Applied Clay Science*, 58, 79-87.
- Buzarovska, A. and Grozdanov, A. 2012. Biodegradable Poly (L-Lactic Acid)/TiO₂ Nanocomposites: Thermal Properties and Degradation. *Journal of Applied Polymer Science*, 123, 4, 2187-2193.
- Casariago, A., Souza, B.W.S., Cerqueira, M.A., Teixeira, J.A., Cruz, L., Di'az, R. and Vicente, A.A. 2009. Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. *Food Hydrocolloids*, 23, 1895-1902.
- Cerrada, M.L., Cristina Serrano, C., Chaves, M.S., Garcia, M.F., Martin, F.F., de Andres, A., Rioboo, R.J.J., Kubacka, A., Ferrer, M., and Garcia, M.F., 2008. Self-Sterilized EVOH-TiO₂ Nanocomposites: Interface Effectson Biocidal Properties. *Advanced Functional Materials*, 18, 1949-1960.
- Chung, Y. L., Ansari, S., Estevez, L., Hayrapetyan, S., Giannelis, E. P. and Lai, H. M. 2010. Preparation and properties of biodegradable starch-clay nanocomposites. *Carbohydrate Polymer*, 79, 391-396.
- Dadashi, S., Mousavi, S.A., Emam D-Jomeh, Z. and Oromiehie, A. 2012. Films Based on Poly (lactic acid) Biopolymer: Effect of Clay and Cellulosic Nanoparticles on their Physical, Mechanical and Structural Properties. *Iranian Journal of Polymer*, 25, 2, 127-136.
- Deka, B. K. & Maji, T.K., 2011. Effect of TiO₂ and nanoclay on the properties of wood polymer nanocomposite. *Composites: Part A, Applied Science and Manufacturing*, 42, 12, 2117-2125.

- Diaz-Visurraga, J., Mele'ndrez, M.F., Garcia, A., Paulraj, M. and Cardenas, G. 2010. Semitransparent Chitosan-TiO₂ Nanotubes Composite Film for Food Package Applications. *J. Applied Polymer Science*, 116, 3503–3515.
- Fakhri, L.A., Ghanbarzadeh, B., Dehghannia, J. and Entezami, A.A. 2012. The Effects of Montmorillonite and Cellulose Nanocrystals on Physical Properties of Carboxymethyl Cellulose/Polyvinyl Alcohol Blend Films. *Iranian Journal of Polymer*, 24, 6, 455-466.
- Ghanbarzadeh, B., Almasi H. and Oleyaei, S. A. 2014. A Novel Modified Starch/Carboxy Methyl Cellulose/Montmorillonite Bionanocomposite Film: Structural and Physical Properties, *International Journal of Food Engineering*, 10 (1): 121–130.
- Ghanbarzadeh, B., Almasi, H and Entezami, A.A. 2010. Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 4, 697-702.
- Hernandez, O., Emaldi, U. and Tovar, J. 2008. In vitro digestibility of edible films from various starch sources. *Carbohydrate Polymer*, 71, 648–655.
- Hoang-Minh, T., Le, T.H., Kasbohm, J. and Gieré, R. 2010. UV-protection characteristics of some clays. *Applied Clay Science*, 48, 349–357.
- Hoang-Minh, T., Le, T.H., Kasbohm, J. and Gieré, R. 2011. Substituting non-natural agents in UV-protection cream by a mixture of clay with Ganoderma pfeifferi extract. *Applied Clay Science*, 53, 66–72.
- Jimenez Rioboo, R.J., Serrano-Selva, C., Fernandez-Garcia, M., Cerradab, M.L., Kubacka, A., Fernandez-Garcia, M. and de Andres, A. 2008. Acoustic and optical phonons in EVOH-TiO₂ nanocomposite films: Effect of aggregation. *Journal of Luminescence*, 128, 851–854.
- Liao, H.T. and Wu, C.S. 2008. New Biodegradable Blends Prepared from Polylactide, Titanium Tetraisopropylate, and Starch. *Journal of Applied Polymer Science*, 108, 2280–2289.
- Li, L. H., Deng, J. C., Deng, H. R., Liu, Z. L., and Li, X. L. 2010. Preparation, characterization and antimicrobial activities of chitosan/Ag/ZnO blend films. *Chemical and Engineering Journal*, 160, 378–382.
- Li, R., Nie, K., Pang, W. and Zhu, Q. 2007. Morphology and properties of organic-inorganic hybrid materials involving TiO₂ and poly (ε-caprolactone), a biodegradable aliphatic polyester. *Journal of Biomedical Materials Research part A*, 114-122.
- Li, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Zhao, G. and Leng, X. 2011. Fabrication and characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids*, 25, 6, 1-7.
- Majdzadeh, K. and Nazari, B., 2010. Improving the mechanical properties of thermoplastic starch poly vinyl alcohol clay nanocomposites. *Composte Science and Technology*, 70, 1557-1563.
- Mallakpour, S. and Barati, A., 2011. Efficient preparation of hybrid nanocomposite coatings based on poly (vinyl alcohol) and silane coupling agent modified TiO₂ nanoparticles. *Progress in Organic Coatings*, 71, 2011, 391–398.
- Mallakpour, S. and Madani, M. 2012. Transparent and thermally stable improved poly (vinyl alcohol)/Cloisite Na⁺/ZnO hybrid nanocomposite films: Fabrication, morphology and surface properties. *Progress in Organic Coatings*, 74, 520–525.
- Ma, X., Chang, P. R., Yang, J., and Yu, J. 2009. Preparation and properties of glycerol plasticized-peastarch/zinc oxide-starch bionanocomposites. *Carbohydrate Polymer*, 75, 472–478.
- Nakayama, N. and Hayashi, T. 2007. Preparation and characterization of poly (L-lactic acid)/TiO₂ nanoparticle nanocomposite films with high transparency and efficient photodegradability. *Polymer Degradation and Stability*, 92, 1255-1264.
- Noushirvani, N., Ghanbarzadeh, B. and Entezami, A.A. 2012. Comparison of Tensile, Permeability and Color Properties of Starch-based Bionanocomposites Containing Two Types of Fillers: Sodium Montmorillonite and Cellulose Nanocrystal. *Iranian Journal of Polymer*, 24, 5, 391-402.
- Park, S. K., Hettiarachy, N. S. and Were L., 2000. Degradation behavior of soy protein-wheat gluten films in simulated soil conditions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 60-68.
- Perez-Mateos, M., Montero, P. and Gomez-Guillen, M.C. 2009. Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. *Food Hydrocolloids*, 23, 53–61.
- Qu, L., Huang, G., Zhang, P., Nie, Y. and Weng, G. 2009. Synergistic reinforcement of nanoclay and carbon black in natural rubber. *Polymer International*, 59, 1397–1402.
- Ray, S.S. and Bousmina, M., 2005. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. *Progress in Materials Science*, 50, 962–1079.
- Rhim, J.w. 2007. Potential use of biopolymer-based nanocomposite in food packaging applications. *Food Science and Biotechnology*, 16 (5), 691-709.
- Rhim, J.w. 2011. Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymer*, 86, 691-699.
- Rhim, J.W., Lee, S.B. and Hong, S.I. 2011. Preparation and Characterization of Agar/Clay Nanocomposite Films: The Effect of Clay Type. *Journal of Food Science*, 76, 3, 40-48.
- Sothornvit, R., Rhim, J. W. and Hong, S.I. 2009. Effect of nano clay type on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/clay composite films. *Journal of Food Engineering*, 91, 468–473.

- Taskaya, L., Chen, Y.C. and Jaczynski, J. 2010. Color improvement by titanium dioxide and its effect on gelation and texture of proteins recovered from whole fish using isoelectric solubilization/precipitation. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 401-408.
- Tunç, S. and Duman, O. 2011. Preparation of active antimicrobial methyl cellulose/carvacrol/ montmorillonite nanocomposite films and investigation of carvacrol release. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 465-472.
- Vartiainen, J., Tammelin, T., Pere, J., Tapper, U. and Harlin, A. 2010. Biohybrid barrier films from fluidized pectin and nanoclay. *Carbohydrate Polymer*, 82, 989-996.
- Yin, M., Li, C., Guan, G., Yuan, X., Zhang, D. and Xiao, Y. 2009. In-Situ Synthesis of Poly (Ethylene Terephthalate)/Clay Nanocomposites Using TiO₂/SiO₂ Sol-Intercalated Montmorillonite as Polycondensation Catalyst. *Polymer Engineering and science*, 1562-1572.
- Zhou, J.J., Wang, S.Y. and Gunasekaran, S. 2009. Preparation and Characterization of Whey Protein Film Incorporated with TiO₂ Nanoparticles. *Journal of Food Science*, 74, 7, 50-56.
- Zhuang, W., Liu, J., Zhang, J.H., Hu, B.X. and Shen, J. 2009. Preparation, Characterization, and Properties of TiO₂/PLA Nanocomposites by In Situ Polymerization. *Polymer Composites*, 1074-1080.
- Zhu, Y., Buonocore, G.G., Lavorgna, M. and Ambrosio, L. 2011. Poly (lactic acid)/Titanium Dioxide Nanocomposite Films: Influence of Processing Procedure on Dispersion of Titanium Dioxide and Photocatalytic Activity. *Polymer Composites*, 519- 528.



The Effects of TiO₂ and Montmorillonite Nanofillers on Structural, Thermal and Optical Properties of Starch based Nanobiocomposite Films

S. A. Oleyaei¹, B. Ghanbarzadeh^{2*}, A. A. Moayed³, F. Abbasi⁴

Received: 2015.02.01

Accepted: 2015.06.04

Introduction: Biodegradable films for food packaging applications have attracted an increasing amount of consideration over the last two decades, predominantly due to environmental pollution and the realization that our petroleum resources are not infinite. Starch, which is one of the natural biopolymers, has been considered as one of the best candidates primarily because of its processibility, availability and price. The main disadvantages of starch films are their pronounced hydrophilic character therefore; they are permeable to water vapor and have usually poor mechanical properties. However, these features can be significantly improved by blending with nanodimension materials such as Montmorillonite (MMT) and Titanium dioxide (TiO₂). The main reason for this improvement in comparison with conventional composites is the large surface area which results in high interactions between the nanofillers and polymer when these nano-materials are well dispersed. The behavior of nanocomposite films has been depended to the dispersion of the nanoparticles in the polymer matrix. MMT as a one-dimensional (1D) material is the most commonly used layered silicates. TiO₂ as three-dimensional (3D) nanoparticle has been investigated most widely because it is inert, inexpensive and, has a high refractive index with UV shielding potential. The study on films with different dimensions of nanofillers simultaneously is rarely reported. MMT and TiO₂ as two inorganic nanofillers have different shapes and structures, so the combination of TiO₂ and MMT apparently had a synergistic effect on the starch film properties. The aim of this study was to control particle agglomeration and investigate the synergistic effect of combination of TiO₂ nanoparticles and MMT layers and on the surface topography, color, and thermal properties of plasticized starch-MMT-TiO₂ nanocomposites.

Materials and methods: First, 100 ml of potato starch solution with a concentration of 4% (w/v) was prepared by dispersion of the starch in distilled water and was gelatinized at 80°C for 15 min. Different levels of MMT (3 and 5% w/w starch) and TiO₂ (0.5, 1 and 2% w/w starch) were dissolved in distilled water and were added to the gelatinized starch after treatment with ultrasound for 30 min. Glycerol, as a plasticizer, with concentrations of 50% (w/w starch) were added to the filmogenic solution. The plasticized starch (PS) based filmogenic solutions were dried in an oven at 45 °C for 15 hours. The surface roughness and topography and thermal properties of the films were determined through atomic force microscopy (AFM) and differential scanning calorimetry (DSC) analysis, respectively. Fourier transforms infrared (FTIR) spectroscopy in the range of 4000 to 400 cm⁻¹. UV-Vis spectroscopy was employed to evaluate the absorbance and opacity behavior of the PS-MMT-TiO₂ nanocomposite films in the wavelength range of 200-800 nm. The color parameters of films were measured by a portable colorimeter. Statistical analysis was performed on a completely randomized design with the analysis of variance (ANOVA) and Duncan's multiple range tests was used to detect differences among the mean values of the films properties

Results and discussion: Atomic force microscopy's images demonstrated an obviously uniform dispersion of MMT and TiO₂ nanomaterials in the PS-3%MMT-TiO₂ matrix with smoother surfaces and a lower roughness parameters than that for the corresponding binary PS-MMT nanocomposites with the MMT filler content (3

1. Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran., Ph.D Candidate of Food Engineering, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2. Professor of Food Chemistry, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3. Seed and Plant Improvement Institute, Crop Science Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran.

4. Professor of Polymer, Institute of Polymeric Materials, Sahand University Technical, Tabriz, Iran.

(*-Corresponding Author Email: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir)

wt%). Surface roughness of starch films was changed depending on the MMT and TiO₂ content. The results of the roughness parameters and topographic images were confirmed by the high frequency distribution curves. In the PS-3 and 5% MMT films, most parts have height of about 400 and 600 nm, respectively; While the height of the PS-MMT-1% TiO₂ bionanocomposites film were 200 and 800 nm. FTIR revealed the hydrogen bonds and electrostatic interactions between nanofillers with starch and themselves by the peaks associated with bond C-O-H at 1142 cm⁻¹ and 990 cm⁻¹ and wide and high intensity IR absorption in the 500-800 cm⁻¹. Evanescence of 3626 and 3452 cm⁻¹ peaks assigned to OH groups of MMT in the PS-3MMT spectrum affirmed the interaction between starch and MMT. Shift in melting temperature and glass transition (T_g) towards higher temperature respectively from 295.1C to 306.3 C and from 199.1 C to 207.6 C were illustrated by DSC results due to addition of TiO₂ in the PS-3%MMT matrix. Improvement of thermal stability might be attributed much jammed and conjugated 3D MMT-TiO₂ network combined together, or powerful interaction between PS and nanofillers could also slowdown the polymer chains motion and melting point during heating. These results showed a significant effect of combination of 1D MMT layers and 3D TiO₂ nanoparticles on the thermal properties of PS nanobiocomposite starch based films. Montmorillonite did not affect color of nanocomposite. The transparency of a nanobiocomposite film is not significantly varied when the clay layers with about one nm thick are excellent dispersed through the polymer matrix, since such MMT platelets are less than the of visible light wavelength and do not block lights transmission. Transmittance, redness and yellowness of new ternary films decreased when TiO₂ was added to PS-3%MMT matrix at 1%. In this case, color difference (ΔE) and whiteness index (WI) are increased 86.6% and 76% respectively. Starch and PS-MMT films were colorless. The presence of TiO₂ imparted whiteness to the nanocomposites due to its inherent whiteness. This phenomenon can be enucleated as the large specific surface area and high refractive index of nanosized TiO₂ particles were accounted or diffuse reflection of light from the interface of the materials, and consequently, transparency loss of the composite films. UV-Vis spectroscopy was employed to evaluate the absorbance and opacity behavior of the PS-MMT-TiO₂ nanocomposite films in the wavelength range of 200-800 nm. Incorporation of TiO₂ nanoparticles into the starch film solution caused a significant decrease of transmittance in visible, UV-A (360 nm), UV-B (300 nm), and UVC (240 nm) regions. The results of UV-Vis spectroscopy showed that this type of films could be used as a packaging material to shield against UV and visible light.

Key words: Starch, Montmorillonite, TiO₂, Nanocomposite, Biodegradable.



بهینه سازی شرایط استخراج قلیایی فیبر از سبوس برنج با روش سطح پاسخ

سارا رهبران، اعظم اعرابی*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۴/۱۲

چکیده

در این پژوهش استخراج فیبر از سبوس برنج در حضور هیدروکسید سدیم به عنوان یک محیط قلیایی در ظرف واکنش تحت فشار انجام گرفت. روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی برای دستیابی یک مدل بر اساس سه متغیر شامل زمان (X_1)، دما (X_2) و غلظت پراکسید هیدروژن (X_3) از نظر مقدار فیبر استخراج شده، ظرفیت اتصال با آب و ظرفیت اتصال با چربی فیبر تولیدی ارزیابی گردید. شرایط بهینه برای تولید حداکثر مقدار فیبر استخراج شده در زمان ۳۵ دقیقه، دمای ۹۹/۶ درجه سلسیوس و غلظت پراکسید هیدروژن ۱۳/۴ درصد و تولید ۱۳/۸۳ درصد فیبر از سبوس برنج حاصل گردید. نتایج نشان داد که دمای فرایند به عنوان فاکتور کلیدی بیشترین تاثیر را بر استخراج فیبر و ظرفیت اتصال با چربی فیبر داشت و هیچکدام از پارامترها بر ظرفیت اتصال با آب فیبر تاثیر معنی داری نداشت ($p < 0.05$).

واژه‌های کلیدی: سبوس برنج، استخراج فیبر، پراکسید هیدروژن، ظرفیت اتصال با آب، ظرفیت اتصال با چربی

مقدمه

رطوبت و دمای اکسترودر متغیرهای مستقل و ظرفیت نگهداری آب، حجم تورم یافتگی و رنگ، متغیرهای در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد دما مهم‌ترین عامل بر خصوصیات آبیگری می باشد و بالاترین ظرفیت نگهداری آب و حجم تورم یافتگی زمانی بدست آمد که پوسته‌ها در معرض ۷ درصد پراکسید هیدروژن، رطوبت ۳۲ درصد و دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند (Galdeano & Grossmann, 2005).

بررسی استخراج قلیایی پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای از سبوس گندم با پراکسید هیدروژن و تأثیر زمان، دمای استخراج و غلظت پراکسید هیدروژن بر بازده استخراج نشان داد که استخراج سبوس گندم با ۲ درصد پراکسید هیدروژن به مدت ۴ ساعت و در دمای ۶۰ درجه سلسیوس و ۲/۵ درصد سبوس منجر به بازیافت ۷۷ درصد از کل آرابینوز، ۶۵ درصد از کل گزیلوز و ۸۶ درصد از محتوی گلوکز غیرسلولزی گردید (Maes & Delcour, 2001).

اصلان زاده و همکاران (۱۳۹۰)، عملکرد پراکسید هیدروژن قلیایی بر روی ویژگی‌های فیزیکی فیبر رژیمی تولید شده از سبوس گندم را مورد بررسی قرار دادند. باتوجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش مشخص گردید که تیمار سبوس گندم با پراکسید هیدروژن در شرایط قلیایی موجب اصلاح خصوصیات فیزیکی آن می‌گردد. صالحی فر و همکاران (۱۳۹۲)، بررسی قابلیت استخراج فیبر

فیبرها ترکیبی از کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم هستند که با کاهش تراکم انرژی در غذا باعث افزایش احساس سیری شده و در کنترل وزن مؤثر می‌باشند (گرچی و همکاران، ۱۳۹۲). به واسطه حضور فیبر در جیره غذایی افزایش سطح گلوکز خون پس از صرف غذا، آهسته‌تر صورت گرفته (فیبرهای محلول) و سبب کاهش وزن می‌شوند (Marshall, 2009). همچنین مشخص گردیده است که این ترکیبات ریسک ابتلا به سرطان روده بزرگ و دیابت تیپ ۲ را کاهش می‌دهند و از طریق کاهش کلسترول بد بدون کاهش کلسترول خوب تا ۱۵ درصد به حفاظت قلب و عروق کمک می‌کنند (Park, 2005). پژوهش‌ها حاکی از آن است که مصرف فیبر، ریسک ابتلا به سرطان سینه را نیز کاهش می‌دهد و در پیشگیری و درمان یبوست، سندرم روده تحریک‌پذیر، کلسترول بالا و چاقی مفید و مؤثر می‌باشد (Parisi, 2002).

در بررسی تاثیر پراکسید هیدروژن قلیایی به همراه روزنرانی بر روی ویژگی‌های پوسته جودوسر (یولاف)، سطوح پراکسید هیدروژن،

۱ و ۲- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا، شهرضا، ایران
* - نویسنده مسئول (Email: aarabi@iaush.ac.ir)

مختلف بر اساس سطوح متغیرهای مورد بررسی (جدول ۳) مشخص شد و سپس آزمون‌ها (استخراج فیبر، قابلیت اتصال با آب فیبر و قابلیت اتصال با چربی فیبر) بر اساس تیمارهای تعیین شده انجام شد.

استخراج فیبر در غلظت ثابت هیدروکسید سدیم و شرایط تعیین شده از دما، زمان و غلظت پراکسید هیدروژن.

بمنظور استخراج فیبر، روغن کشتی از سبوس انجام شد و سپس مراحل هیدرولیز انجام گرفت. ابتدا به مقدار ۶ گرم سبوس برنج ۱۰۰ میلی لیتر هیدروکسید سدیم ۱ مولار اضافه شد سپس سوسپانسیون حاصل در ارلن ریخته شد و با فویل آلومینیومی بمنظور جلوگیری از تبخیر محلول قلبایی بسته شد، سپس سوسپانسیون حاصله در ظرف واکنش تحت فشار (در شرایطی از دما، زمان و غلظت پراکسید هیدروژن که در جدول ۳ مطابق با طراحی آزمون به روش سطح پاسخ تعیین گردید) قرار داده شد. پس از اتمام واکنش مذکور، سوسپانسیون حاصله با شدت ۵۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گشته و رسوب بدست آمده پس از شستشو صاف گردید و برای رنگبری از پراکسید هیدروژن به عنوان عامل رنگبر در پنج سطح طبق جدول ۱ استفاده گردید. جهت افزایش تماس پراکسید هیدروژن با رسوبات بدست آمده و بهبود رنگبری، سوسپانسیون حاصله در ورتکس به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت پس از آن با شدت ۵۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس فاز زیرین جداسازی گردید و بمنظور حذف باقیمانده پراکسید هیدروژن، رسوبات چندین مرتبه با آب شستشو داده شد و صاف گردید سپس رسوبات در آون خلاء با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید (Inglett, 1998). وزن رسوبات بدست آمده از ۲۰ تیمار و همچنین ویژگی‌هایی چون اندازه گیری ظرفیت اتصال با آب و ظرفیت اتصال با چربی تعیین گردید و شرایط بهینه انجام واکنش از نظر دما، زمان و غلظت پراکسید هیدروژن توسط نرم افزار مینی تب مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

اندازه گیری ظرفیت اتصال با آب فیبر استخراج شده

جهت تعیین این ویژگی فیبر به دست آمده ابتدا مقدار ۱ گرم فیبر خشک شده با ۲۰ میلی لیتر آب مقطر در لوله سانتریفوژ مخلوط شد و پس از گذشت ۱۸ ساعت نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰g سانتریفوژ شدند. فاز بالایی دور ریخته شد و فاز زیری در روی قیف که از قبل وزن شده بود منتقل گشت پس از ۱۵ دقیقه نمونه به همراه کاغذ صافی وزن شده و درون آون با دمای ۴۰ درجه

رژیمی از سبوس برنج و مقایسه خواص عملکردی آن با فیبر تجاری گندم را مورد بررسی قرار دادند. نتایج کلی نشان داد گرچه استخراج فیبر رژیمی از سبوس برنج به روش شیمیایی آسان‌تر از روش آنزیمی است، ولی به طور کلی فیبر رژیمی استخراج شده به روش آنزیمی به عنوان فیبر برتر معرفی گردید.

استفاده از سبوس برنج به عنوان یک منبع فوق العاده ارزان و فراوان در کشور ما که یکی از پنج کشور تولیدکننده برنج هیبرید و یازدهمین تولیدکننده برنج معمولی در جهان است، به دلایل مختلفی از جمله وجود برخی از فاکتورهای ضدتغذیه‌ای و مشکلات مربوط به انبارداری سبوس برنج و سرعت بالای فساد آن با محدودیت‌هایی همراه می‌باشد، در این پژوهش هدف ارائه یک روش مناسب برای استخراج فیبر می‌باشد. استخراج فیبر از سبوس برنج با هیدروکسید سدیم به عنوان یک ماده قلبایی انجام شد و با استفاده از نرم افزار مینی تب نسخه ۱۶، طراحی آزمون با روش سطح پاسخ، اثر پارامترهای مختلف زمان، دما و غلظت پراکسید هیدروژن بر میزان استخراج فیبر مورد بررسی قرار گرفت و سطوح بهینه پارامترها بمنظور بیشینه استخراج شناسایی گردید.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق سبوس برنج رقم چمبا از کارگاه شالی کوبی حکیمی در اصفهان تهیه شد. هیدروکسید سدیم، پراکسید هیدروژن (۳۳/۵٪)، روغن ذرت مازولا، سانتریفوژ مدل شیمی فان ساخت کشور ایران مورد استفاده قرار گرفت.

آنالیز شیمیایی سبوس برنج

اندازه گیری رطوبت طبق روش ارائه شده توسط استاندارد ایران به شماره استاندارد ۲۷۰۵، اندازه گیری خاکستر طبق استاندارد ایران به شماره ۲۷۰۶، اندازه گیری چربی به روش سوکسله و مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۶۲ و اندازه گیری فیبر مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۳۹۶۱ بر روی سبوس برنج انجام گرفت.

طراحی آزمون با روش سطح پاسخ

طراحی آزمون بر اساس نرم افزار مینی تب نسخه ۱۶ با روش سطح پاسخ (RSM) بمنظور بررسی اثر سه متغیر زمان، دما و غلظت پراکسید هیدروژن، هر یک در پنج سطح طبق جدول ۱ انجام شد. با استفاده از طراحی فاکتوریل جزئی در قالب طرح CCD، ۲۰ تیمار

سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد.

جدول ۱- متغیرها و سطوح اندازه‌گیری به منظور استخراج فیبر

سطوح					متغیرها
$-\alpha = 1/68$	-۱	۰	+۱	$+\alpha = 1/68$	
۲۰/۰۰	۳۰/۰۰	۴۵/۰۰	۶۰/۰۰	۷۰/۰۰	زمان (min)
۸۰/۰۰	۹۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۱۲۰/۰۰	۱۳۰/۰۰	دما (°C)
۸/۲۹	۱۰/۰۰	۱۲/۵۰	۱۵/۰۰	۱۶/۰۰	غلظت پراکسید هیدروژن (%)

یک از فاکتورهای هدف توصیف کند، از رابطه ۴ و ضرایب برآورد شده از نتایج تجزیه واریانس که در جداول آورده شده است استفاده می‌شود. بر اساس این جداول X_1 ، X_2 ، X_3 به ترتیب ضرایب هر یک از فاکتورهای زمان، دما و غلظت پراکسید هیدروژن می‌باشد وقتی که اثر آنها بر نتایج به صورت معادله درجه یک باشد. ضرایب این فاکتورها در حالتی که بصورت معادله درجه دوم اثر گذار باشند X_1^2 ، X_2^2 و X_3^2 بوده و چنانچه این فاکتورها اثر متقابل بر یکدیگر داشته باشند از ضرایب X_1X_2 ، X_1X_3 ، X_2X_3 استفاده می‌شود.

بمنظور مدل‌سازی ابتدا باید مشخص کرد هر یک از موارد تعیین شده اعم از درجه یک، درجه دو و اثر متقابل در چه سطحی معنی‌دار شده‌اند که این مطلب با بررسی p مربوط به هر یک از جداول (جدول ۴) مشخص گردید. برای تهیه مدل در سطح ۹۵٪ مواردی که $p > 0.05$ دارند در مدل استفاده می‌شوند. مدل‌های مربوط به فاکتورهای هدف و جدول تجزیه واریانس هر یک، در جدول ۵ آمده است.

نتایج و بحث

آنالیز سبوس برنج

نتایج آزمایشات انجام شده بر روی سبوس برنج بمنظور تعیین مقادیر رطوبت، خاکستر، چربی و درصد فیبر در جدول ۲ مشخص گردیده است. دیگر محققان در آنالیز شیمیایی سبوس برای رطوبت، خاکستر، چربی و فیبر مقادیر ۱۳-۱۴٪، ۹-۱۰٪، ۲۰٪ و ۲۵٪ را گزارش نمودند (غریب‌بی‌بالان و همکاران، ۱۳۹۲ و معانی و همکاران، ۱۳۹۳). دلیل اختلاف بین نتایج و نتایج بدست آمده در این پژوهش این است که ترکیب سبوس برنج وابسته به فاکتورهای زیادی مانند نوع و نژاد، اندازه، شکل و ضخامت لایه بیرونی دانه، نوع پردازش بکار رفته در طی آسیابانی، شرایط محیط کشت و مقاومت دانه برنج به شکستگی و ساییدگی می‌باشد (صالحی فر و همکاران، ۱۳۹۲).

نمونه خشک به همراه کاغذ صافی وزن شده واز طریق رابطه (۱) ظرفیت نگهداری آب اندازه‌گیری شد (Robertson et al., 2000).

$$W_{H_2O} = (m_1 - m_2) / m_2 \quad (1)$$

m_1 : وزن نمونه مرطوب بر حسب گرم

m_2 : وزن نمونه خشک بر حسب گرم

اندازه‌گیری ظرفیت اتصال با چربی فیبر استخراج شده

برای انجام این آزمون ۴ گرم نمونه به ۲۰ میلی‌لیتر روغن ذرت در یک لوله سانتریفوژ ۵۰ میلی‌لیتر اضافه گردید، سپس محتویات لوله هر ۵ دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه همزده شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، لوله‌ها با شدت ۱۶۰۰ g به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. در نهایت دو فاز ایجاد شد فاز رویی دور ریخته شد و فاز زیری که حاوی فیبر و روغن جذب شده است اندازه‌گیری شد که عدد بدست آمده طبق رابطه (۲) به عنوان FBC^۱ (قابلیت اتصال با چربی) گزارش گردید (Abdul-hamid & Luan, 2000).

$$W_{FBC} = (m_1 - m_2) / m_2 \quad (2)$$

m_1 : نمونه و روغن بر حسب گرم

m_2 : نمونه بدون روغن بر حسب گرم

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

مدل ریاضی از این آزمون‌ها با حضور ۳ متغیر مطابق با رابطه ۳ می‌باشد، که β_0 عدد ثابت، β_1 ، β_2 ، β_3 ضرایب متغیرهای خطی، β_{12} ، β_{13} ، β_{23} ضرایب اثرات متقابل پارامترها می‌باشد در حالیکه β_{11} ، β_{22} ، β_{33} ضرایب درجه دوم پارامترها می‌باشد.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (3)$$

بمنظور تهیه مدلی که اثر متغیرهای مورد بررسی را روی هر

جدول ۲- نتایج حاصل از آنالیز شیمیایی سبوس برنج

ترکیبات (گرم / ۱۰۰ گرم)	سبوس برنج
رطوبت	۶/۲۰±۰/۱۴*
**خاکستر	۱۲/۱۷±۰/۰۱
**چربی	۲۰/۳۲±۰/۵۵
**فیبر	۲۱/۷۷±۰/۶۷

*نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده در سه تکرار
** بر مبنای ماده خشک محاسبه گردید.

بررسی اثر پارامترها بر استخراج فیبر و ویژگی های آن

بر اساس روش سطح پاسخ و انتخاب شرایط آزمایش، در مجموع ۲۰ آزمایش با ۶ تکرار در مرکز صورت گرفت. مقدار فیبر بدست آمده در هر تیمار و همچنین ظرفیت اتصال با آب و ظرفیت اتصال با چربی فیبر بدست آمده اندازه گیری شد. پاسخ های مورد بررسی شامل میزان فیبر، ظرفیت اتصال با آب و ظرفیت اتصال با چربی فیبر در جدول (۶ و ۳) درج شده است. در بین نتایج بدست آمده، پارامترهایی که مقدار پی ولویو برای آنها کمتر از ۰/۰۵ (P < ۰/۰۵) بدست آمد اثرات آنها بر پاسخ معنی دار می باشد. با حذف ضرایب مربوط به پارامترهایی که معنی دار نیستند مدل نهایی پیشنهادی در این طراحی بصورت رابطه (۴) ارائه می گردد:

$$Y_1 = 0.745 - 0.121X_2 - 0.169X_3^2 - 0.127X_3^2 \quad (4)$$

بر اساس نتایج بدست آمده مشخص می گردد که استخراج فیبر بطور قابل توجه و مشخص متاثر از پارامتر خطی و درجه دوم دما (X₂) و غلظت پراکسید هیدروژن (X₃) می باشد.

برای بررسی اثرات سه متغیر بر مقدار استخراج فیبر، نمودارهای مربوط به اثر هر متغیر بصورت مجزا، نمودارهای مربوط به اثرات متقابل متغیرها و نمودار کانتور^۱ آنها ارائه گردیده است. نتایج آنالیز داده های بدست آمده در شرایط تعیین شده در جدول ۵ ذکر گردیده است.

با توجه به شکل های فوق، اثر هر کدام از متغیرها بر استخراج فیبر مشاهده می گردد. در شکل ۱ (الف) اثر همزمان دما و غلظت پراکسید هیدروژن بر استخراج فیبر مورد بررسی قرار گرفته است. با افزایش دما تا ۱۰۰ درجه سلسیوس میزان استخراج فیبر افزایش پیدا کرده و بیشترین ارتفاع نمودار قابل مشاهده است و در دماهای بالاتر از ۱۰۰ درجه سلسیوس، کاهش یافته است. همچنین با افزایش غلظت پراکسید هیدروژن تا ۱۶ درصد میزان استخراج فیبر افزایش

یافته است. در اثر انجام واکنش شیمیایی سبوس برنج با هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن، فیبرها شامل سلولز و هرمشتق سلولزی دستخوش تخریب می شود و میزان این تخریب، به محیط واکنش، شکل سلولز، دما، زمان و سایر عوامل مانند تنش های مکانیکی بستگی دارد. در اثر فرآیندهای قلبیایی به علت نفوذ مولکول های ماده قلبیایی بین صفحات کریستالی سلولز و شکستن پیوندهای هیدروژنی بین آنها فاصله ایجاد می شود و در نتیجه ساختار سلولز تخریب و سبب استخراج آن می شود (Gould, 1985).

در شکل ۱ (ب) اثر همزمان زمان و غلظت پراکسید هیدروژن بر استخراج فیبر مورد بررسی قرار گرفته است. با افزایش زمان تا ۴۰ دقیقه استخراج فیبر افزایش یافته و در زمان های بالاتر از ۴۰ دقیقه، کاهش یافته است. همچنین با افزایش غلظت پراکسید هیدروژن تا ۱۵ درصد میزان استخراج افزایش و در غلظت های بالاتر از ۱۵ درصد، کاهش یافته است. در شکل ۱ (ج) اثر همزمان دما و زمان بر استخراج فیبر مورد بررسی قرار گرفته است. با افزایش دما میزان استخراج کاهش یافته است. همچنین با افزایش زمان تا ۶۰ دقیقه بیشترین استخراج فیبر و در زمان های بالاتر از ۶۰ دقیقه، کاهش یافته است. حرارت باعث پارگی سلول و در نتیجه باعث تخریب پلی ساکاریدها از جمله فیبر می شود. همچنین انحلال بخشی از لیگنین موجود در دیواره سلولی با پراکسید هیدروژن تحت شرایط قلبیایی و کاهش درجه کریستالیسیون سلولز از طریق قطع پیوندهای هیدروژنی میان و درون شاخه ها سبب کاهش مقدار فیبر استخراجی می شود (Gould, 1989). بیشترین مقدار استخراج فیبر در دمای حدود ۱۰۰ درجه سلسیوس و غلظت پراکسید هیدروژن ۱۶ و زمان ۴۰ دقیقه تعیین گردید.

بر اساس نتایج بدست آمده از ظرفیت اتصال با آب فیبر به طور قابل توجه متاثر از متغیر زمان (X₁) به صورت درجه دوم است. مدل نهایی پیشنهادی در این طراحی بصورت رابطه (۵) ارائه می گردد:

$$Y_2 = 7.553 - 0.830X_1^2 \quad (5)$$

در شکل ۲ (الف) اثر همزمان دما و غلظت پراکسید هیدروژن بر ظرفیت اتصال با آب مورد بررسی قرار گرفته است. با افزایش دما تا ۱۱۰ درجه سلسیوس ظرفیت اتصال با آب افزایش یافته و در دماهای بالاتر از ۱۱۰ درجه سلسیوس، کاهش یافته است. همچنین با افزایش غلظت پراکسید هیدروژن تا ۱۳ درصد ظرفیت اتصال با آب افزایش یافته و در غلظت های بالاتر از ۱۳ درصد، کاهش یافته است.

جدول ۳- تیمارهای انتخابی مطابق طرح مرکب مرکزی بمنظور استخراج فیبر سبوس برنج و میزان فیبر استخراج شده

مشاهدات	زمان (X_1 (min)	دما (X_2 (°C)	غلظت پراکسید هیدروژن (X_3 (%)	میزان فیبر استخراجی (%) Y
۱	۴۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۱۲/۵۰	۱۱/ ۸۳±۰/۰۱
۲	۶۰/۰۰	۹۰/۰۰	۱۵/۰۰	۱۲/۶۷ ± ۰/۰۴
۳	۲۰/۰۰	۹۰/۰۰	۱۵/۰۰	۱۱/۳۳ ± ۰/۰۶
۴	۴۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۱۲/۵۰	۱۲/۸۳ ± ۰/۰۳
۵	۴۰/۰۰	۱۳۰/۰۰	۱۲/۵۰	۹/ ۳۳ ± ۰/۰۴
۶	۴۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۱۲/۵۰	۱۱ ± ۰/۰۳
۷	۲۰/۰۰	۱۲۰/۰۰	۱۵/۰۰	۱۱/۳۳ ± ۰/۰۶
۸	۶۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۱۲/۵۰	۹/۵ ± ۰/۰۳
۹	۴۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۸/۲۹	۸/۵ ± ۰/۰۶
۱۰	۲۰/۰۰	۱۲۰/۰۰	۱۰/۰۰	۷/۵ ± ۰/۰۳
۱۱	۴۰/۰۰	۸۰/۰۰	۱۲/۵۰	۱۰/۵ ± ۰/۰۷
۱۲	۲۰/۰۰	۹۰/۰۰	۱۰/۰۰	۱۱/۶۷ ± ۰/۰۳
۱۳	۴۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۱۲/۵۰	۱۳/۱۷ ± ۰/۰۵
۱۴	۴۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۱۶/۷۰	۱۱/۶۷ ± ۰/۰۱
۱۵	۶۰/۰۰	۱۲۰/۰۰	۱۰/۰۰	۷/۱۷ ± ۰/۰۴
۱۶	۴۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۱۲/۵۰	۱۳/۸۳ ± ۰/۰۴
۱۷	۶۰/۰۰	۱۲۰/۰۰	۱۵/۰۰	۸/۵ ± ۰/۰۵
۱۸	۷۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۱۲/۵۰	۱۱/۳۳ ± ۰/۰۱
۱۹	۴۰/۰۰	۱۰۵/۰۰	۱۲/۵۰	۱۳/۸۳ ± ۰/۰۱
۲۰	۶۰/۰۰	۹۰/۰۰	۱۰/۰۰	۱۱/۱۷ ± ۰/۰۴

جدول ۴- ضرایب برآورد شده از تجزیه واریانس مدل مربوط به میزان فیبر استخراج شده

متغیر	ضریب	P
ثابت	-۰/۷۴۵	۰/۰۰۰
X_1	-۰/۰۵۷	۰/۱۳۳
X_2	-۰/۱۲۱	۰/۰۱۴
X_3	۰/۰۸۱	۰/۰۷۲
X_1^2	-۰/۰۵۳	۰/۳۱۲
X_2^2	-۰/۱۶۲	۰/۰۲۵
X_3^2	-۰/۱۴۷	۰/۰۳۸
X_1X_2	-۰/۰۷۰	۰/۳۰۷
X_1X_3	-۰/۰۱۲	۰/۸۴۸
X_2X_3	۰/۰۸۶	۰/۳۱۷

جدول ۵- تجزیه واریانس مربوط به مدل میزان فیبر استخراج شده

منابع	درجه آزادی	مجموع مربعات دنباله‌ای	میانگین مربعات تصحیح شده	F	P
رگرسیون	۹	۰/۱۹۲	۰/۲۱۴	۳/۱۹۰	۰/۰۴۲
خطی	۳	۰/۰۸۹	۰/۰۳۴	۵/۱۷۰	^a ۰/۰۲۱
درجه دوم	۳	۰/۰۸۸	۰/۰۲۹	۱/۱۴۰	^{ns} ۰/۳۱۲
حاصلضرب	۳	۰/۰۱۵	۰/۰۰۵	۰/۷۷۰	^{ns} ۰/۵۳۷
خطای باقیمانده	۱۰	۰/۰۶۷	۰/۰۰۶	-	-
خطای عدم برازش	۵	۰/۰۴۴	۰/۰۰۸	۲/۰۴۰	۰/۲۲۷
خطای خالص	۵	۰/۰۲۲	۰/۰۰۴	-	-
خطای کل	۱۹	۰/۲۵۹	-	-	-

a معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ ns غیر معنی دار

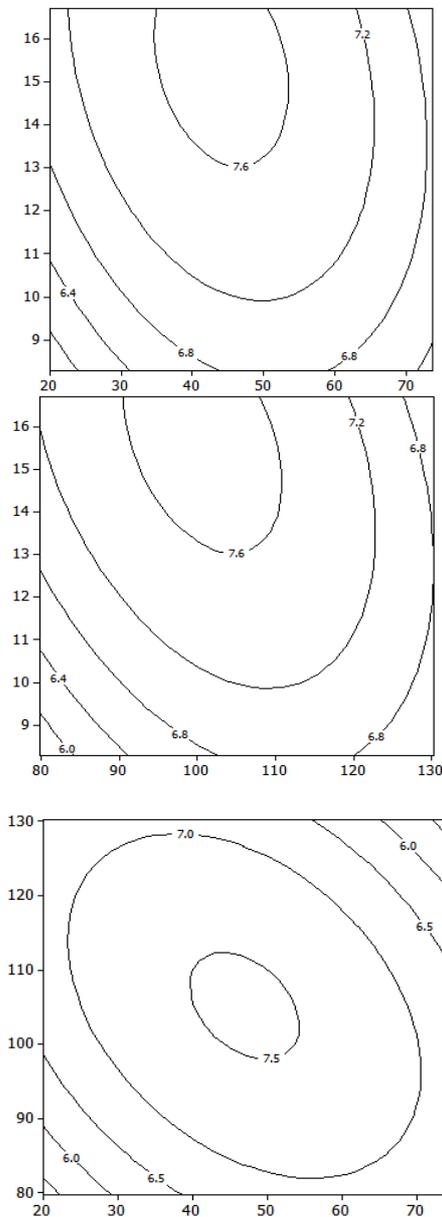
جدول ۶- داده‌های آزمایشی ظرفیت اتصال با آب فیبر و ظرفیت اتصال با چربی

مشاهدات	ظرفیت اتصال با آب Y ₂	ظرفیت اتصال با چربی Y ₃
۱	۷/۴۲ ± ۰/۰۱	۰/۰۱ ± ۰/۳۱
۲	۷/۰۶ ± ۰/۰۴	۰/۴۰ ± ۰/۰۳
۳	۶/۶۹ ± ۰/۰۱	۰/۳۷ ± ۰/۰۵
۴	۷/۰۱ ± ۰/۰۱	۰/۲۹ ± ۰/۰۱
۵	۶/۵۷ ± ۰/۰۱	۰/۳۳ ± ۰/۰۸
۶	۶/۹۸ ± ۰/۰۲	۰/۳۳ ± ۰/۰۴
۷	۶/۸۷ ± ۰/۰۳	۰/۴۲ ± ۰/۰۲
۸	۷/۹۲ ± ۰/۰۴	۰/۳۲ ± ۰/۰۳
۹	۶/۷۴ ± ۰/۰۲	۰/۴۲ ± ۰/۰۶
۱۰	۶/۸۵ ± ۰/۰۳	۰/۴۰ ± ۰/۰۳
۱۱	۶/۸۲ ± ۰/۰۳	۰/۳۹ ± ۰/۰۲
۱۲	۵/۰۴ ± ۰/۰۱	۰/۳۷ ± ۰/۰۱
۱۳	۷/۳۲ ± ۰/۰۱	۰/۲۹ ± ۰/۰۲
۱۴	۷/۵۷ ± ۰/۰۲	۰/۴۳ ± ۰/۰۳
۱۵	۶/۵۹ ± ۰/۰۲	۰/۲۹ ± ۰/۰۵
۱۶	۷/۸۷ ± ۰/۰۳	۰/۳۱ ± ۰/۰۴
۱۷	۷/۲۶ ± ۰/۰۳	۰/۳۳ ± ۰/۰۱
۱۸	۶/۴۷ ± ۰/۰۲	۰/۳۴ ± ۰/۰۱
۱۹	۷/۹۹ ± ۰/۰۴	۰/۳۰ ± ۰/۰۷
۲۰	۶/۹۸ ± ۰/۰۱	۰/۴۳ ± ۰/۰۵

دیواره سلولی گشته و از طریق قطع پیوندهای هیدروژنی میان و درون شاخه‌ها، باعث کاهش درجه کریستالیزاسیون سلولز می‌شود. در ساختار باز داخلی ایجاد شده، گروه‌های OH آزاد تمایل به برقراری

تیمار ترکیبات لیگنوسلولزی با پراکسید هیدروژن تحت شرایط قلیایی^۱ (AHP) موجب افزایش حلالیت بخشی از لیگنین موجود در

1 Alkaline Hydrogen Peroxide



شکل ۲- نمودار کانتور دو بعدی میزان میزان ظرفیت اتصال با آب فیبر در مقابل (الف) دما و غلظت (ب) زمان و غلظت (ج) زمان و دما

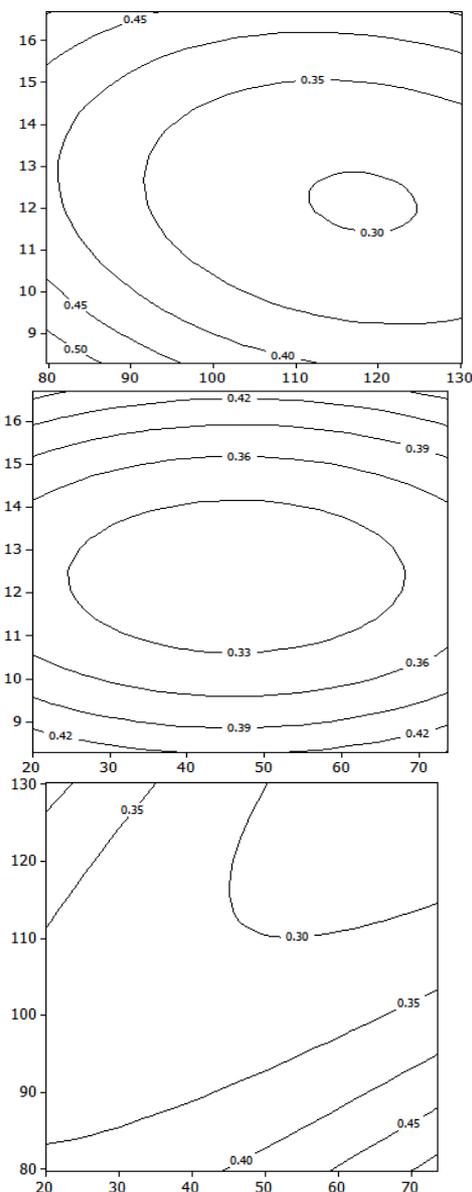
در شکل ۳ (الف) اثر همزمان دما و غلظت پراکسید هیدروژن بر ظرفیت اتصال با چربی مورد بررسی قرار گرفته است. در دمای ۹۰ درجه سلسیوس و غلظت ۹ درصد پراکسید هیدروژن ظرفیت اتصال با چربی افزایش و با افزایش دما و غلظت پراکسید هیدروژن، ظرفیت اتصال با چربی کاهش یافته است.

پیوند با مولکول‌های آب را داشته و این امر موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب و قابلیت تورم یافتگی می‌شود (Gould, 1989). در شکل ۲ (ب) اثر همزمان زمان و غلظت پراکسید هیدروژن بر ظرفیت اتصال با آب مورد بررسی قرار گرفته است. با افزایش زمان تا ۵۰ دقیقه ظرفیت اتصال با آب افزایش و در زمان‌های بالاتر از ۵۰ دقیقه، کاهش یافته است همچنین با افزایش غلظت پراکسید هیدروژن تا ۱۳ درصد ظرفیت اتصال با آب افزایش یافته و در غلظت‌های بالاتر از ۱۳ درصد، کاهش یافته است. عملیات لیگنین زدایی و محلول شدن همی سلولز تحت شرایط قلیایی (بالای pH=۱۰/۵) و در حضور پراکسید هیدروژن تشدید می‌گردد و در pH=۱۱/۵ و بالاتر از آن به بیشینه خود می‌رسد. در واقع زمانی که منابع فیبری در pH=۱۰/۵ یا بالاتر از آن و در حضور پراکسید هیدروژن قرار می‌گیرد محتوی همی سلولز نامحلول بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته و به شکل محلول تبدیل می‌شود. با توجه به تمایل بالای همی سلولز به جذب آب محیط و آزاد شدن همی سلولز از لیگنین در اثر هیدرولیز قلیایی و تخریب پیوند استری ماتریکس لیگنوسلولز روند تبدیل همی سلولز از شکل نامحلول به فرم محلول تشدید شده و موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب سبوس برنج می‌گردد. (Gould, 1983).

در شکل ۲ (ج) اثر همزمان دما و زمان بر ظرفیت اتصال با آب مورد بررسی قرار گرفته است. با افزایش زمان تا ۵۰ دقیقه ظرفیت اتصال با آب افزایش و در زمان‌های بالاتر از ۵۰ دقیقه، کاهش یافته است همچنین با افزایش دما تا ۱۱۰ درجه سلسیوس، ظرفیت اتصال با آب افزایش یافته و در دماهای بالاتر از ۱۱۰ درجه سلسیوس، کاهش یافته است. ظرفیت اتصال با آب در دمای حدود ۱۱۰ درجه سلسیوس و غلظت پراکسید ۱۳ و زمان ۵۰ دقیقه بیشترین مقدار می‌باشد. نتایج بدست آمده از ظرفیت اتصال با چربی فیبر بطور قابل توجه متاثر از اثر متغیر دما (X_2) به صورت درجه اول است. اثر متغیرهای زمان (X_1)، دما (X_2)، غلظت پراکسید هیدروژن (X_3) نیز به صورت درجه دوم است. اثر متقابل بین زمان و دما (X_1X_2)، دما و غلظت پراکسید هیدروژن (X_2X_3) وجود دارد.

مدل نهایی پیشنهادی در این طراحی بصورت رابطه (۶) ارائه می‌گردد:

$$Y_2 = 0.7209 - 0.0449X_2 + 0.033X_1^2 + 0.049X_2^2 + 0.1194X_3^2 - 0.0179X_1X_2 + 0.0245X_2X_3 \quad (6)$$



شکل ۳- نمودار کانتور دو بعدی میزان ظرفیت اتصال با چربی فیبر در مقابل (الف) دما و غلظت (ب) زمان و غلظت (ج) زمان و دما

در شکل ۳ (ب) بررسی اثر همزمان زمان و غلظت پراکسید هیدروژن بر ظرفیت اتصال با چربی مورد بررسی قرار گرفته است. در زمان ۷۰ دقیقه و غلظت ۹ درصد ظرفیت اتصال با چربی افزایش یافته است و با کاهش زمان و افزایش غلظت پراکسید هیدروژن ظرفیت اتصال با چربی کاهش یافته است.

در شکل ۳ (ج) اثر همزمان زمان و دما بر ظرفیت اتصال با چربی مورد بررسی قرار گرفته است. با افزایش زمان ظرفیت اتصال با چربی افزایش یافته است و با افزایش دما تا ۹۰ درجه سلسیوس افزایش و در دماهای بالاتر کاهش یافته است.

جذب روغن بیشتر یک پدیده فیزیکی است بطوری که ترکیبات و بیوپلیمرهای موجود در نمونه باعث محبوس شدن و به دام افتادن قطرات روغن در داخل خود می‌شوند. همان‌طور که در بخش تأثیر فیبر بر ظرفیت نگهداری آب مشاهده شد فیبر باعث افزایش ظرفیت نگهداری آب می‌شود در نتیجه بر جذب روغن نیز تأثیر می‌گذارد چرا که با افزایش ظرفیت نگهداری آب، مانع از دست رفتن رطوبت و جایگزینی آن با روغن می‌شود (Singthong & Thongkae, 2009). میزان ظرفیت اتصال با چربی در دمای حدود ۹۰ درجه سلسیوس و غلظت پراکسید ۹ و زمان ۷۰ دقیقه بیشترین مقدار می‌باشد.

نتیجه گیری

در بررسی اثر سه متغیر زمان، دما و غلظت پراکسید هیدروژن بر مقدار و ویژگی‌های فیبر استخراج شده (از نظر ظرفیت اتصال با آب، ظرفیت اتصال با چربی) نتایج نشان داد که دما به‌عنوان یک پارامتر تأثیرگذار در میزان استخراج فیبر بوده و بیشترین مقدار استخراج فیبر در دمای ۹۹/۶ درجه سلسیوس، در زمان ۳۵ دقیقه و غلظت پراکسید هیدروژن ۱۳/۴ درصد برابر با ۱۳/۸۳ درصد حاصل گردید. زمان، دما، غلظت پراکسید هیدروژن هیچ کدام در ظرفیت اتصال با آب فیبر تأثیر معنی‌داری نداشت در حالی که درجه حرارت در ظرفیت اتصال با چربی فیبر تأثیر معنی‌داری داشت و میزان ظرفیت اتصال با چربی در دمای حدود ۹۰ درجه سلسیوس و غلظت پراکسید ۹ و زمان ۷۰ دقیقه بیشترین مقدار می‌باشد.

منابع

- استاندارد ملی ایران، ۲۷۰۵، ۱۳۷۱، غلات و فرآورده های آن - روش اندازه گیری رطوبت - روش مرجع.
- استاندارد ملی ایران، ۲۷۰۶، ۱۳۷۱، غلات، حبوبات و فرآورده های جانبی - اندازه گیری خاکستر در کوره.
- استاندارد ملی ایران، ۲۸۶۲، ۱۳۶۶، روش اندازه گیری چربی غلات و فرآورده های آن.
- استاندارد ملی ایران، ۳۹۶۱، ۱۳۷۶، اندازه گیری فیبر خام در فرآورده های کشاورزی، خوراکی (روش عمومی).
- اصلان زاده، م.، میزانی، م.، گرامی، ع. و علیمی، م.، ۱۳۹۰، بررسی عملکرد پراکسید هیدروژن قلبایی بر روی ویژگی های فیزیکی فیبر رژیمی تولید شده از سبوس گندم، علوم غذایی و تغذیه، سال ۹، شماره ۴.
- صالحی فر، م. و فدایی نوغانی، و.، ۱۳۹۲، بررسی قابلیت استخراج فیبر رژیمی از سبوس برنج و مقایسه خواص عملکردی آن با فیبر تجاری گندم، علوم غذایی و تغذیه، سال ۱۰، شماره ۳.
- غریب بی بالان، ف.، عطای صالحی، ا. و غیاثوند، ر.، ۱۳۹۲، بررسی خصوصیات تغذیه ای و تکنولوژیکی سبوس برنج در محصولات نانویی، همایش ملی علوم و صنایع غذایی.
- گرچی، ن. و گل‌مکانی، م.، ۱۳۹۲، خصوصیات و کاربرد فیبرهای رژیمی غنی شده با استفاده از ضایعات صنایع غذایی، کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران.
- معانی، ب.، علیمی، م. و فاضلی، ف.، ۱۳۹۳، بررسی تاثیر پراکسید هیدروژن قلبایی بر روی ویژگیهای فیزیکی فیبر رژیمی تولید شده از سبوس برنج، کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران.
- Abdul-hamid, A., Luan, Y., 2000, Functional properties of dietary fibre prepared from defatted rice bran, *Food Chemistry*, 68, 15-19.
- Galdeano, M.C., Grossmann, M.V.E., 2005, Effect of treatment with alkaline hydrogen peroxide associated with extrusion on color and hydration properties of oat hulls, *Brazilian Archives of Biology Technology*, 48 (1), 63-72.
- Gould, J.M., 1983, Alkaline peroxide delignification of agricultural residues to enhance enzymatic saccharification, *Journal of Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, 46-52
- Gould, J. M., 1985, Studies on the mechanism of alkaline peroxide delignification of agricultural residues, *Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 225-231.
- Gould, J. M., Jasber, B. K., Dexter, L.B., Hsu, J.T., Lewis, S.M., Fahey, G.C., 1989, High fiber, no caloric flour substitute for baked foods. properties of alkaline peroxide-treated lignocellulose, *Cereal Chemistry*, 66(3), 201-205
- Inglett, G.E., 1998, Dietary fiber gels for calorie reduced foods and method for preparing the same, us patent, 5, 666,662.
- Maes, C., Delcour, J.A., 2001, Alkaline hydrogen peroxide extraction of wheat bran non-starch polysaccharides, *Journal of Cereal Science*, 34, 29-35.
- Marshall JR., 2009, Nutrition and colon cancer prevention. *Current Opinion in Clinical Nutrient ion & Metabolic Care*. pp.12:539.
- Parisi, G.C., Zilli, M., Miani, M.P., 2002, High-fiber diet supplementation in patients with irritable bowel syndrome (IBS): a multicenter, randomized, open trial comparison between wheat bran diet and partially hydrolyzed guar gum (PHGG), *Dig Dis Sci*. 47 (8). 1697-1704.
- Park Y., 2005, Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer, *JAMA*. pp. 2849:2857.
- Robertson, J. A., Monredon, F. D., Dysseler, P., Guillon, F., Amado, R., Thibault, J. F., 2000, *Lebensm-wiss.u-technol*, 33(2), 72-79.
- Singthong, J., Thongkaew, C., 2009, Using hydrocolloids to decrease oil absorption in banana chips, *LWT, Food Science and Technology*, 42, 1199-1203.

Optimization of alkaline fiber extraction from rice bran using response surface methodology

S. Rahbaran¹, A. Aarabi^{2*}

Received: 2015.11.05

Accepted: 2016.07.02

Introduction: The consumption of dietary fiber plays an important role in the prevention of illnesses such as diabetes type 2, hypercholesterolemia. Dietary fibers are not only desirable for their nutritional properties but also for their functional and technological properties. This study was undertaken to investigate the possibility of alkaline hydrolysis to remove fiber from rice bran.

Material and methods: In this study, the extraction of fiber from rice bran was carried out in the presence of sodium hydroxide as an alkaline media and under autoclave condition. The Response Surface methodology was evaluated by the central composite design (CCD) to build a model based on three variables including the time (X_1), temperature (X_2) and the concentration of Hydrogen Peroxide (X_3) for the extraction of fiber, and water binding and fat binding capacity of produced fiber.

Results and Discussion: Results showed that the optimum conditions for the maximum production of extracted fiber were 35min, 99.6 °C and 13.47% for time, temperature and the concentration of hydrogen peroxide, respectively. Results indicated that temperature was the most significant factor influencing considerably on fiber extraction and fiber fat binding capacity and none of the parameters had significant effect in the level of (0.05) on the water binding capacity of fiber.

Key words: Rice Bran, Fiber, Water Binding Capacity, Fat Binding Capacity, Response Surface Method

1 and 2. Former M. Sc. Student and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, ShahrezaBranch, Islamic Azad University, Shahreza, Iran.
(*-Corresponding Author Email: aarabi@iaush.ac.ir)

مقاله کوتاه پژوهشی

تأثیر دما و میزان ماده جامد محلول بر خصوصیات فیزیکی - حرارتی عصاره مالت

فاطمه حیدری دلفاردا^۱، مسعود تقی زاده^{۲*}، سید محمد علی رضوی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۰۲

چکیده

تعیین خواص حرارتی - فیزیکی عصاره مالت جهت تخمین سرعت انتقال حرارت، تولید، حمل و نقل و نگهداری همچنین ارزیابی و مدل‌سازی فرایندهایی از قبیل خشک کردن و تغلیظ ضروری است. در این پژوهش خواص حرارتی - فیزیکی عصاره مالت شامل گرمای ویژه، ضریب هدایت حرارتی، ضریب انتشار حرارتی و جرم حجمی در سه سطح ماده جامد محلول ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درصد و در محدوده دمایی ۲۵ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد بررسی و تعیین گردید. نتایج حاصل از تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد که هم درصد ماده جامد و هم دما بر خواص حرارتی - فیزیکی عصاره مالت تأثیر معنی‌داری دارند. با افزایش درصد ماده جامد گرمای ویژه، ضریب هدایت حرارتی و ضریب انتشار حرارتی کاهش یافته ولی جرم حجمی افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش دما گرمای ویژه، ضریب هدایت حرارتی و ضریب انتشار حرارتی افزایش یافته ولی دانسیته کاهش می‌یابد. از سوی دیگر با تجزیه و تحلیل رگرسیون چندگانه، مدل‌های پیش‌بینی کننده خواص حرارتی - فیزیکی عصاره مالت بر مبنای متغیرهای کاری تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: جرم حجمی، ضریب انتشار حرارتی، ضریب هدایت حرارتی، عصاره مالت، گرمای ویژه

مقدمه

عصاره مالت از تبخیر و تغلیظ عصاره آبی دانه‌های غلات خصوصاً جو که فرایند تشکیل مالت را گذرانده‌اند، بدست می‌آید و جایگزین مناسبی برای انواع شکر تصفیه شده از قبیل ساکارز و شربت گلوکز می‌باشد. عصاره مالت به علت دارا بودن قدرت دیاستاتیک و ویژگی‌های آنزیمی بالا، سرشار بودن از قندهای قابل تخمیر با قابلیت تجزیه و جذب سریع، عطر و طعم و قدرت طعم دهنده‌گی و همچنین ارزش تغذیه‌ای بالا، موارد استفاده زیادی دارد (Beitane and Straumite, 2014; Yungelson and Han 2007; Dix and Vastanden, 2004).

آگاهی از خواص حرارتی - فیزیکی مواد غذایی از قبیل ضریب هدایت حرارتی (k)، گرمای ویژه (C_p)، ضریب انتشار حرارتی (α) و جرم حجمی (ρ) برای تخمین سرعت انتقال حرارت، بررسی، کنترل، ارزیابی و مدل‌سازی عملیات فراوری مواد غذایی (انجماد، پاستوریزاسیون، خشک کردن، تغلیظ، سرد کردن و دیگر موارد)، همچنین تولید، حمل و نقل و نگهداری مواد غذایی خصوصاً زمانی که هزینه‌های انرژی،

کیفیت و ایمنی مواد غذایی اهمیت داشته باشند، ضروری می‌باشد. طراحی و مهندسی تجهیزاتی که شامل فرایندهای حرارتی هستند نیازمند در اختیار داشتن داده‌های خصوصیات حرارتی - فیزیکی مواد غذایی می‌باشد. خصوصاً که در بسیاری از مواد غذایی خصوصیات حرارتی - فیزیکی با تغییر میزان محتوای آب و دما دچار تغییرات اساسی می‌گردد (Muramatsu et al., 2009; Minim et al., 2005; Gratao et al., 2004).

تاکنون پژوهش‌های زیادی برای بررسی تأثیر درصد ماده جامد محلول و دما روی خواص حرارتی - فیزیکی مواد غذایی مختلف انجام شده است. در یکی از این پژوهش‌ها، Minim و همکاران (۲۰۰۹) خواص حرارتی - فیزیکی آب لیمو را در محدوده دمایی ۲۷۵/۴۵ تا ۳۷۳/۷۵ کلوین و میزان آب ۰/۳۸ تا ۰/۹۰ (وزنی - وزنی) تعیین و مدل‌های رگرسیونی خطی برای پیش‌بینی خواص ذکر شده ارائه کردند. بر اساس نتایج این پژوهش ρ از ۹۶۲/۳ تا ۱۲۸۲/۸ کیلوگرم بر متر مکعب، k از ۰/۳۴ تا ۰/۶۲۴ وات بر متر درجه سانتی‌گراد، C_p از ۲۴۴۶/۵ تا ۴۰۶۰/۱ ژول بر کیلوگرم درجه سانتی‌گراد و α از $۱۰^{-۶}/۱۱۶$ تا $۱۰^{-۶}/۱۷۸۵$ متر مربع بر ثانیه متغیر بودند همچنین درصد آب در مقایسه با دما تأثیر بیشتری روی خواص ذکر شده داشت.

۱، ۲ و ۳ - به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

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

در سطوح مختلف دما و درصد ماده جامد محلول، همچنین تعیین و بررسی تغییرات خواص حرارتی مذکور تحت تاثیر دو متغیر دما و درصد ماده جامد به کمک مدل‌های تجربی برازش شده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مالت مورد نیاز برای تهیه نمونه‌های عصاره مالت، از یکی از فروشگاه‌های شهر مشهد تهیه شد. ابتدا ۱۵۰ گرم مالت آسیاب شده توزین و سپس ۶۰۰ میلی‌لیتر آب ۴۶ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در این دما نگهداری شد. سپس به ازای هر دقیقه، دما به اندازه‌ی ۱ درجه سانتی‌گراد افزایش داده شد تا به دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد برسد. در این دما ۳۰۰ میلی‌لیتر آب با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده شد و به مدت ۶۰ دقیقه در این دما نگهداری شد. در مرحله بعد محلول مورد نظر به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه سرد و با کاغذ صافی توسط پمپ خلاء صاف و شربت شیرین مالت بدست آمد. شربت حاصله تا رسیدن به غلظت‌های ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درصد مواد قندی جوشانده شده، درصد ماده جامد محلول نمونه‌های بدست آمده توسط رفرکتومتر اندازه‌گیری شد.

تعیین گرمای ویژه و ضریب هدایت حرارتی عصاره مالت

مقادیر C_p و k عصاره مالت با استفاده از گرماسنج پیمایشی تفاضلی (DSC) اندازه‌گیری و تعیین گردید. این روش کاربردهای وسیعی از جمله اندازه‌گیری گرمای ویژه، سرعت انتقال حرارت، دمای انتقال شیشه‌ای، نقطه ذوب، کریستالیزاسیون و غیره در صنعت دارد و تغییرات انرژی حرارتی ماده را به صورت تابعی از دما، در محدوده دمایی وسیعی اندازه‌گیری می‌نماید. دارای دو ظرف از جنس مس به حجم ۲ میلی‌لیتر، طول و قطر به ترتیب ۱/۶ و ۵/۵ میلی‌متر می‌باشد که داخل یکی از آنها نمونه و در ظرف دیگر ماده مینا قرار می‌گیرد. بعد از اینکه ظرف‌ها تحت عملیات حرارتی قرار گرفتند واحد ثبت کننده سیستم، تغییرات انرژی حرارتی ماده اصلی و ماده مینا را اندازه‌گیری و میزان انرژی حرارتی دفع یا جذب شده توسط ماده مینا را محاسبه کرد. در این روش مقادیر C_p و k نمونه‌های عصاره مالت بعد از کالیبره کردن قسمت کالریمتر دستگاه به کمک تولوئن، در سطوح مختلف دما (۲۵ تا ۹۰ سانتی‌گراد) و ماده جامد (۶۰، ۷۰ و ۸۰ درصد) تعیین گردید.

تعیین جرم حجمی عصاره مالت

ρ عصاره مالت توسط پیکنومتر حجمی 50^2 میلی‌لیتری اندازه‌گیری شد. ابتدا ۲۵ گرم از نمونه عصاره مالت مورد آزمون توزین

Perreira و همکاران (۲۰۱۳) k شیر را در محدوده دمایی ۲۰ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۸۸/۳ تا ۹۱/۲ درصد و میزان چربی ۰ تا ۳/۵ درصد اندازه‌گیری و نشان دادند، k با افزایش محتوای رطوبت به صورت خطی افزایش یافته اما با افزایش میزان چربی کاهش می‌یابد. Telis و همکاران (۲۰۰۰) α ، C_p ، K و دانسیته عصاره قهوه را در محدوده دمایی ۳۰ تا ۸۲ درجه سانتی‌گراد و میزان آب ۰/۴۹ تا ۰/۹ درصد اندازه‌گیری کردند. مدل‌های رگرسیونی چند جمله‌ای خطی را برای نشان دادن تاثیر دما و درصد آب بر خواص ذکر شده با ضرایب R^2 ، به ترتیب ۰/۹۸، ۰/۹۹، ۰/۹۴ و ۰/۹۸ ارائه دادند.

در پژوهشی دیگر Cabral و همکاران (۲۰۰۷) خواص حرارتی- فیزیکی آب شاه توت را اندازه‌گیری و تاثیر درصد ماده جامد محلول و دما را روی α ، C_p ، k ، ماده ذکر شده بررسی کردند. α ، C_p ، k با افزایش دما و کاهش درصد ماده جامد محلول افزایش یافتند در حالی که ρ با افزایش دما و همچنین کاهش درصد ماده جامد محلول کاهش یافت. Tavman (۱۹۹۹) ضریب k در هشت نوع پنیر و چهار نوع ماست و کره را به کمک روش سیم داغ اندازه‌گیری کردند و تاثیر میزان آب، پروتئین و چربی را روی هدایت حرارتی بررسی کردند. نتایج نشان داد هدایت حرارتی با افزایش محتوای رطوبت و دما افزایش و با افزایش چربی و پروتئین کاهش می‌یابد. Tan و همکاران (۲۰۰۴) تاثیر دما، میزان آب و گلیسرول را روی C_p مخلوط‌های نشاسته، آب و گلیسرول به نسبت‌های مختلف توسط گرماسنج پیمایشی تفاضلی بررسی نمودند. با افزایش دما و محتوای آب، C_p افزایش یافت و میزان گلیسرول تاثیر متفاوتی روی مخلوط‌های مختلف داشت. Fontan و همکاران (۲۰۰۹) تاثیر دما را روی خصوصیات حرارتی- فیزیکی آب نارگیل بررسی کردند. نتایج نشان داد ρ و ویسکوزیته با افزایش دما کاهش پیدا می‌کنند در حالی که k و α بطور چشمگیری افزایش می‌یابند. در پژوهشی دیگر روستاپور و همکاران (۱۳۹۱) اثر دما و درصد ماده جامد بر خواص حرارتی- فیزیکی آب انار بررسی کردند و نتایج نشان داد تاثیر ماده جامد بر خصوصیات مذکور بیش از دما می‌باشد. Muramatsu و همکاران (۲۰۰۵) k مخلوط آرد برنج و پودر شیر پس چرخ را توسط پروب هدایت حرارتی در محدوده دمایی ۱۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد و محتوای رطوبت ۸ تا ۱۸ درصد اندازه‌گیری کردند و مدل‌های تجربی را به عنوان تابعی از محتوای رطوبت و دما ارائه دادند.

همچنین k ، C_p و ρ فراورده‌های مایع از تخم مرغ شامل سفیده، زرده و مخلوطی از آنها تعیین گردید و مدل‌های تجربی خطی برای نشان دادن تاثیر دما و درصد رطوبت بر این خواص ارائه شد (Coimbra et al., 2006). با توجه به این که خواص حرارتی- فیزیکی عصاره مالت تاکنون اندازه‌گیری و مورد مطالعه قرار نگرفته است، هدف از انجام این پژوهش تعیین α ، C_p ، k و ρ عصاره مالت

1Differential scanning calorimeter (DSC)

2Volumetric Pycnometer

آنالیز واریانس استفاده شد (جدول ۱). این نتایج نشان می‌دهد که درصد ماده جامد عصاره مالت نسبت به دمای آن تاثیر بیشتری بر تغییرات C_p عصاره مالت داشته است. در ذیل تغییرات C_p عصاره مالت با دما در مقادیر مختلف درصد ماده جامد توسط مدل‌های رگرسیونی یک متغیره نشان داده شده است (روابط ۲، ۳ و ۴). بهترین روابط جهت برازش تغییرات C_p عصاره مالت با دما برای ماده جامد محلول ۶۰ درصد رابطه لگاریتمی با ضریب تبیین R^2 ، ۰/۹۲۹ و ماده جامد ۷۰ درصد رابطه خطی با ضریب تبیین ۰/۸۶۸ و برای ماده جامد ۸۰ درصد رابطه لگاریتمی با ضریب تبیین ۰/۸۲۷ می‌باشند.

$$C_p = 0.21 \ln T - 0.2184 \quad R^2 = 0.929, X_s = 60 \quad (2)$$

$$C_p = 2.245 + 0.005T \quad R^2 = 0.868, X_s = 70 \quad (3)$$

$$C_p = 0.041 \ln T + 1.945 \quad R^2 = 0.827, X_s = 80 \quad (4)$$

به‌منظور ارائه مدلی مناسب که رابطه بین تغییرات C_p عصاره مالت با تغییرات درصد ماده جامد و دما را نشان دهد، از رگرسیون چندگانه استفاده گردید. مدل رگرسیونی بدست آمده یک مدل خطی دو متغیره بوده که ضریب تبیین آن، R^2 ، ۰/۹۸۵ و با اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار می‌باشد. ضرایب استاندارد β بیانگر آن است که افزایش یک درصدی ماده جامد محلول کاهش حدود ۰/۹۸ درصدی C_p را در بردارد در حالی که افزایش یک درصدی دما باعث افزایش حدود ۰/۱۷ درصدی C_p خواهد شد (جدول ۲). رابطه خطی بدست آمده بین متغیر وابسته C_p و متغیرهای مستقل درصد ماده جامد (X_s) و دما (T) به صورت معادله (۵) می‌باشد.

$$C_p = 5.422 - 0.044X_s + 0.003T \quad R^2 = 0.985 \quad (5)$$

شکل ۱ رابطه بین تغییرات C_p عصاره مالت را با دما همچنین، مدل‌های گذرانده شده بر داده‌های آزمون را نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از بررسی k نشان داد این خصوصیت حرارتی در عصاره مالت با کاهش درصد ماده جامد محلول از ۸۰ تا ۶۰ درصد و با افزایش دما از ۲۵ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد از ۰/۱۱۹۶ به ۰/۳۴۷ وات بر متر درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد. افزایش دما باعث افزایش جنبش بین مولکولی می‌شود در نتیجه سرعت انتقال حرارت و k افزایش می‌یابد. از آن جایی که k آب نسبت به سایر ترکیبات تشکیل‌دهنده بیشتر است در نتیجه با افزایش درصد ماده جامد k کاهش می‌یابد. نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که درصد ماده جامد عصاره مالت نسبت به دمای آن تاثیر معنی‌دارتری بر تغییرات k عصاره مالت داشته است. تغییرات k عصاره مالت با دما در مقادیر مختلف ماده جامد محلول توسط مدل‌های رگرسیونیک متغیره نشان داده شده است (روابط ۶ و ۷ و ۸).

و در مقداری آب گرم حل شد. محلول حاصل به یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل و با آب مقطر به حجم رسانده شد. برای بررسی ρ عصاره مالت در دماهای مختلف پیکنومتر از محلول مورد نظر پر و در یک حمام هم‌دما^۱ مستقر شد و با تنظیم دمای گرم‌کن آن در نقطه مورد نظر تعیین ρ در آن دما امکان پذیر گردید. ρ عصاره مالت در سه سطح ماده جامد محلول ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درصد و در سه سطح دما در محدوده ۲۵ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد در سه تکرار اندازه‌گیری شد (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران).

تعیین ضریب انتشار حرارتی

با مشخص بودن k ، C_p و ρ و با استفاده از رابطه (۱)، ضریب انتشار حرارتی (α) عصاره مالت در سه سطح ماده جامد و در محدوده دمایی ۲۵ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد محاسبه گردید.

$$\alpha = \frac{k}{\rho C_p} \quad (1)$$

در این رابطه α = ضریب انتشار حرارتی (m^2/s)، k = ضریب هدایت حرارتی (w/mC°)، C_p = گرمای ویژه ($kJ/kg^\circ C$) و ρ = جرم حجمی (kg/m^3) می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش آزمایش‌ها به شیوه فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. معادلات تجربی به‌منظور نشان دادن رابطه هر یک از خواص حرارتی- فیزیکی عصاره مالت با متغیرهای مستقل دما و درصد ماده جامد محلول و نمودارها توسط این نرم افزار ترسیم شدند.

نتایج و بحث

C_p عصاره مالت با کاهش درصد ماده جامد محلول از ۸۰ درصد اولیه تا ۶۰ درصد و افزایش دما از ۲۵ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد، از مقدار ۲/۰۷۴ کیلوژول بر کیلوگرم درجه سانتی‌گراد تا ۳/۰۶۳ کیلوژول بر کیلوگرم درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد توجه به این که C_p آب نسبت به بقیه مواد تشکیل‌دهنده عصاره مالت بیشتر است لذا با افزایش درصد ماده جامد موجود در ماده C_p کاهش می‌یابد. روند تغییرات C_p عصاره مالت با دما و درصد ماده جامد محلول مشابه نتایج بدست آمده توسط روستاپور و همکاران (۱۳۹۱) که C_p آب انار شفاف را در محدوده دمایی ۲۵ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد و در ماده جامد محلول ۱۲ تا ۶۵ درصد تعیین نموده‌اند، می‌باشد. برای ارزیابی تاثیر هر کدام از پارامترهای دما و درصد ماده جامد بر C_p عصاره مالت، از

جدول ۱- آنالیز تجزیه واریانس (ANOVA) تاثر تغییرات دما و غلظت بر خواص حرارتی - فیزیکی عصاره مالت

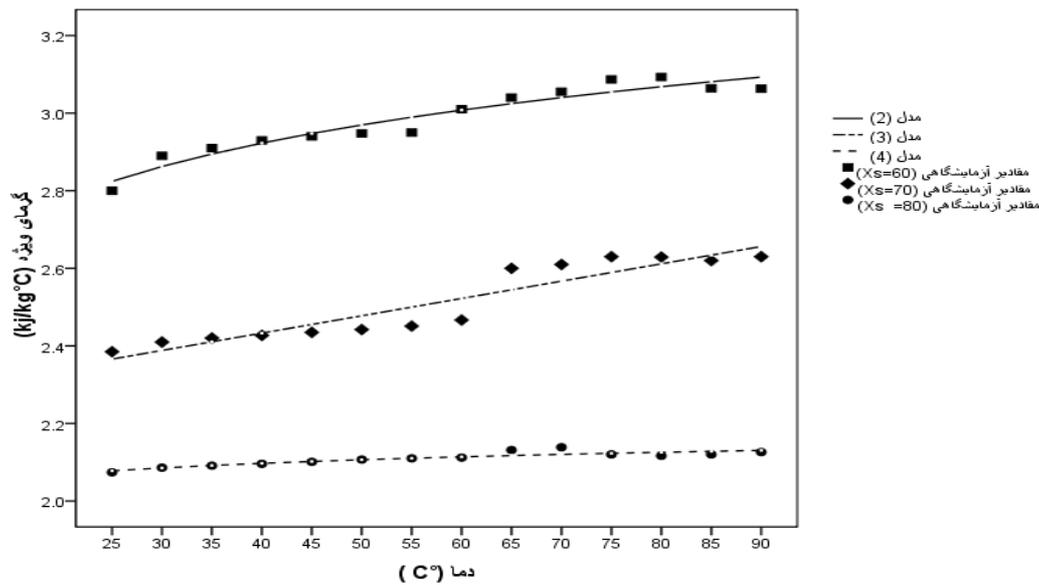
Sig	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	منبع تغییرات	
۰/۰۰۰	۵/۹۲۷**	۰/۰۱۳	۱۳	۰/۱۷۴	دما (A)	گرمای ویژه
۰/۰۰۰	۱۰۹۵/۹۳۳**	۲/۶۸۵	۲	۵/۳۷۱	غلظت (B)	
۰/۶۹۶	۰/۰۳۱	۰/۰۰۴	۲۶	۰/۰۵	AB	
		۰/۰۰۰۲	۸۴	۰/۰۰۰۵۹	خطا	
۰/۰۰۰	۸/۸۱**	۰/۰۰۷	۱۳	۰/۰۸۷	دما (A)	ضریب هدایت حرارتی
۰/۰۰۰	۱۲۷/۷۳۱**	۰/۰۹۷	۲	۰/۱۹۳	غلظت (B)	
۰/۷۲۹	۳/۱۷	۰/۰۰۱	۲۶	۰/۰۲	AB	
		۰/۰۰۰۰۲۳	۸۴	۰/۰۰۰۰۳۴	خطا	
۰/۰۰۱	۲۰/۱۳۴**	۳۳۷/۶۱۲	۲	۶۷۵/۲۲۳	دما (A)	جرم حجمی
۰/۰۰۰	۱۶۹۵/۹۱**	۸۱۶۳/۸۳۴	۲	۱۳۲۷/۶۶۸	غلظت (B)	
۰/۵	۲/۵۸	۴/۸۱۴	۴	۱۹/۲۵۵	AB	
		۱/۷۶۹	۱۹	۰/۰۰۰۰۳۴	خطا	
۰/۰۰۰	۸/۲۲۱**	۶/۳۹۴	۲	۱۲/۷۸۸	دما (A)	ضریب انتشار حرارتی
۰/۰۰۰	۷/۷۵۹**	۶/۰۳۵	۲	۱۲/۰۷	غلظت (B)	
۰/۹۴	۰/۰۷۵۹	۰/۰۹۲۷	۴	۳/۱۱۱	AB	
		۰/۰۶۰۴	۱۹	۱/۴۹۲	خطا	

** معنی داری در سطح ۱٪

جدول ۲- ضرایب همبستگی خواص حرارتی - فیزیکی عصاره مالت

Sig	آزمون T	ضرایب استاندارد β	ضرایب معادله		
۰/۰۰۰	۸۲/۴۹۲**		۵/۴۲۲	ضریب ثابت	گرمای ویژه
۰/۰۰۰	-۴۹/۴۰۹**	-۰/۹۷۸	۰/۰۴۸	غلظت	
۰/۰۰۰	۸/۵۲۳**	۰/۱۶۹	۰/۰۰۳	دما	
۰/۰۰۰	۱۴/۰۵۱**		۰/۶۷۶	ضریب ثابت	هدایت حرارتی
۰/۰۰۰	-۱۲/۴۶۸**	-۰/۷۶۲	۰/۰۰۸	غلظت	
۰/۰۰۰	۸/۰۰۰**	۰/۴۸۹	۰/۰۰۲	دما	
۰/۰۰۰	۷/۸۰۷**		۱۰۹۵/۳۵۸	ضریب ثابت	جرم حجمی
۰/۰۰۰	۲۰/۲۳۱**	۰/۹۲۸	۴/۱۵۸	غلظت	
۰/۰۰۵	-۴/۷۰۵**	-۰/۲۱۶	۰/۳۶۶	دما	
۰/۰۰۳	۶/۲۳۷**		$۱۳/۷۳۹ \times ۱۰^{-۸}$	ضریب ثابت	ضریب انتشار حرارتی
۰/۰۰۳	-۴/۶۹۹**	-۰/۶۵۷	$۰/۱۴۲ \times ۱۰^{-۸}$	غلظت	
۰/۰۰۳	۴/۸۰۳**	۰/۶۷۲	$۰/۰۴۵ \times ۱۰^{-۸}$	دما	

** معنی داری در سطح ۱٪



شکل ۱- تغییرات گرمای ویژه عصاره مالت با دما

مولکولی زیاد شده و تعداد مولکول‌ها در واحد حجم کم می‌شود. همچنین با افزایش درصد ماده جامد محلول از ۶۰ تا ۸۰ درصد ρ افزایش می‌یابد زیرا افزایش درصد ماده جامد باعث افزایش تمرکز ماده جامد در واحد حجم می‌شود. بر اساس نتایج آنالیز واریانس درصد ماده جامد عصاره مالت نسبت به دمای آن تاثیر معنی داری بر تغییرات ρ عصاره مالت دارد. روستاپور و همکاران (۱۳۹۱) نیز نتایج مشابهی را برای ρ آب انار شفاف گزارش نمودند. تغییرات ρ عصاره مالت با دما در مقادیر مختلف ماده جامد محلول توسط مدل‌های رگرسیونییک متغیره نشان داده شده است (روابط ۱۰، ۱۱ و ۱۲).

روابط خطی بدست آمده جهت برازش تغییرات ρ عصاره مالت نسبت به دما برای مقادیر ماده جامد محلول ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درصد ضرایب تبیین، R^2 ، به ترتیب ۰/۹۹۹/۹۹۹، ۰/۹۹۸ و ۰/۹۹۸ را در بر داشتند.

$$P = 1328.699 - 0.402T \quad R^2 = 0.999, X_s = 60 \quad (10)$$

$$P = 1375.451 - 0.290T \quad R^2 = 0.999, X_s = 70 \quad (11)$$

$$P = 1426.201 - 0.286T \quad R^2 = 0.998, X_s = 80 \quad (12)$$

برای بدست آوردن مدلی مناسب که تغییرات ρ عصاره مالت با متغیرهای مستقل درصد ماده جامد و دما را نشان دهد، از رگرسیون چندگانه استفاده گردید. مدل بدست آمده یک مدل خطی دو متغیره بوده که ضریب تبیین، R^2 ، ۰/۹۹۹ دارد و اشاره بر این نکته دارد که مدل برازش شده با اطمینان ۹۹ درصد تغییرات ρ را بیان می‌کند. ضرایب استاندارد β بیانگر این است که افزایش یک درصد ماده جامد محلول افزایش حدود ۰/۹۳ درصدی ρ را در بردارد. در حالی که افزایش یک درصدی دما باعث کاهش حدود ۰/۲۲ درصدی ρ عصاره

روابط لگاریتمی جهت برازش تغییرات k عصاره مالت با دما برای ماده جامد محلول ۶۰، ۷۰ و ۸۰ با ضرایب تبیین، R^2 ، به ترتیب ۰/۹۴۲/۹۴۶، ۰/۸۴۶ و ۰/۸۴۶ می‌باشند.

$$K = 0.13 \ln T - 0.211 \quad R^2 = 0.946, X_s = 60 \quad (6)$$

$$K = 0.109 \ln T - 0.218 \quad R^2 = 0.942, X_s = 70 \quad (7)$$

$$K = 0.048 \ln T - 0.027 \quad R^2 = 0.846, X_s = 80 \quad (8)$$

به‌منظور ارائه یک مدل مناسب که رابطه بین تغییرات k عصاره مالت با تغییرات درصد ماده جامد و دما را نشان دهد، از رگرسیون چندگانه استفاده گردید. مدل بدست آمده یک مدل خطی دو متغیره بوده که دارای ضریب تبیین، R^2 ، ۰/۸۵۸ و با اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار می‌باشد. ضرایب استاندارد β بیانگر این است که افزایش یک درصدی درصد ماده جامد محلول کاهش ۷۶ درصدی k را در بر دارد در حالی که افزایش یک درصدی دما باعث افزایش ۴۹ درصدی k خواهد شد (جدول ۲). رابطه خطی بدست آمده بین متغیر وابسته K عصاره مالت و متغیرهای مستقل X_s و T بصورت رابطه زیر می‌باشد.

$$K = 0.676 - 0.008 X_s + 0.002T \quad R^2 = 0.858 \quad (9)$$

Telis و همکاران (۲۰۰۰) نیز نتایج مشابهی را برای k عصاره قهوه گزارش نمودند، و مدل رگرسیونی چندجمله‌ای خطی برای نشان دادن تاثیر دما و درصد ماده جامد بر k عصاره قهوه ارائه دادند. شکل ۲ تغییرات k عصاره مالت با دما و همچنین مدل‌های لگاریتمی گذرانده شده بر داده‌های آزمون را نشان می‌دهد.

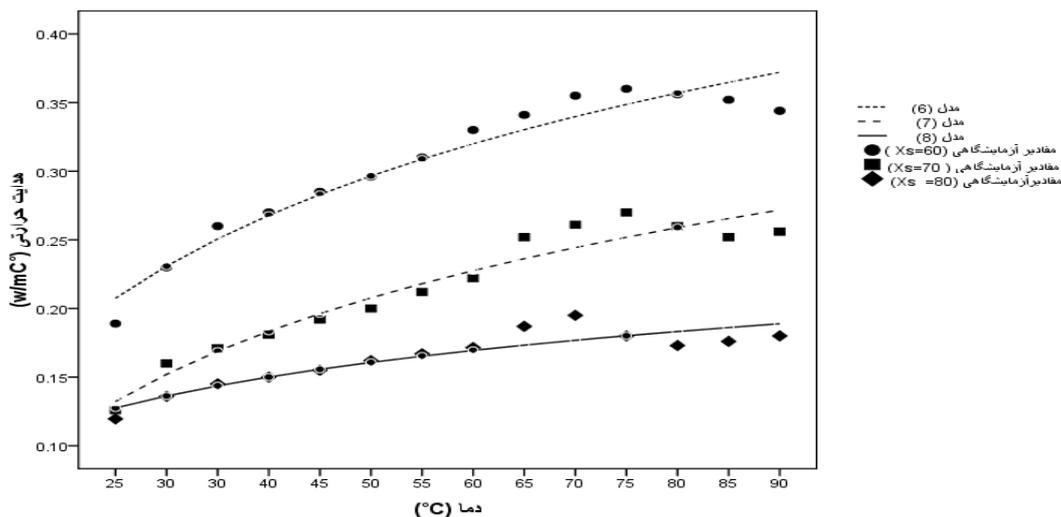
بر اساس نتایج بدست آمده ρ با افزایش دما از ۲۵ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد بصورت خطی کاهش می‌یابد زیرا با افزایش دما، فعالیت

جامد ۶۰ تا ۸۰ درصد و محدوده دمایی ۲۵ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد بصورت غیرمستقیم تعیین شده، مقادیر محاسبه شده مورد تحلیل و بررسی آماری قرار گرفت. نتایج بیانگر این است که این ضریب با کاهش درصد ماده جامد از ۸۰ تا ۶۰ درصد و افزایش دما از ۲۵ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد. بر اساس نتایج آنالیز واریانس دمای عصاره مالت نسبت به درصد ماده جامد آن تاثیر معنی‌دارتری بر تغییرات α عصاره مالت دارد.

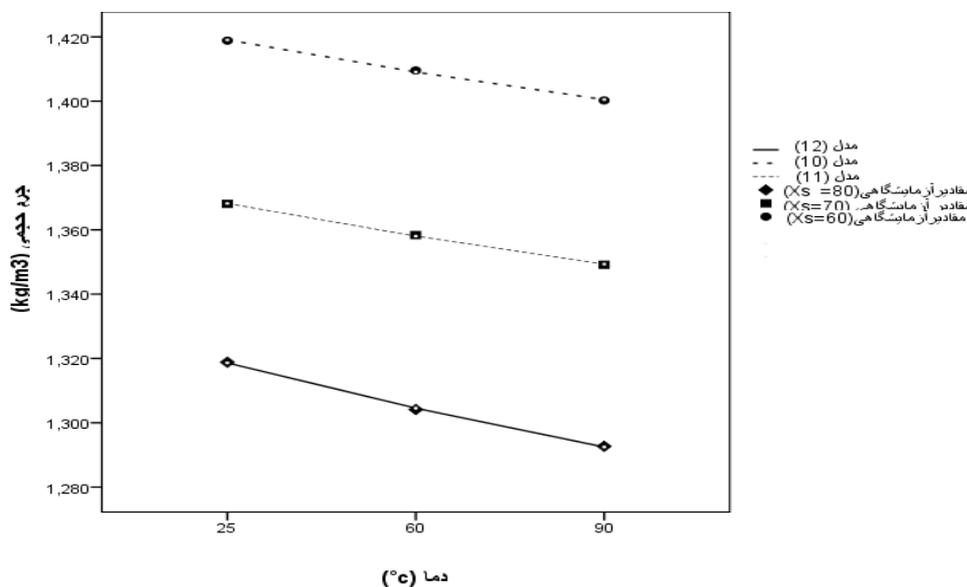
مالت خواهد شد (جدول ۲). رابطه خطی بدست آمده بین متغیر وابسته ρ عصاره مالت و متغیرهای مستقل X_s و T به صورت رابطه ریز می‌باشد.

$$P = 1095.358 + 4.158X_s - 0.366T \quad R^2 = 0.99 \quad (13)$$

شکل ۳ تغییرات ρ عصاره مالت را با دما همچنین مدل‌های خطی گذرانده شده بر داده‌های آزمون را نشان می‌دهد. در مورد α مقادیر آن با استفاده از رابطه (۱) در درصدهای ماده



شکل ۲- تغییرات ضریب هدایت حرارتی با دما



شکل ۳- تغییرات جرم حجمی با دما

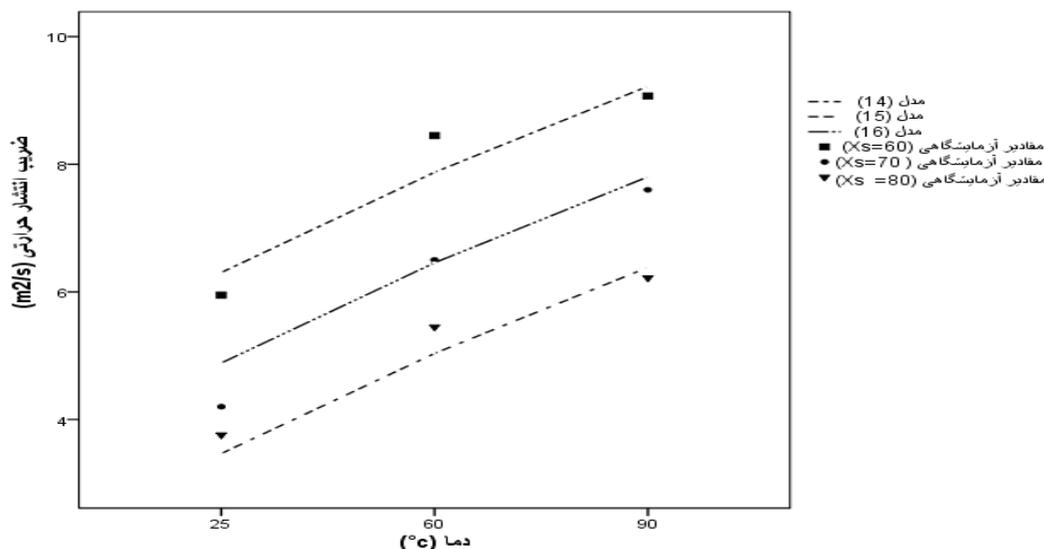
۳۷۳/۷۵ کلوین و میزان آب ۰/۳۸ تا ۰/۹۰ بدست آورده‌اند، می‌باشد. تغییرات α عصاره مالت با دما در مقادیر مختلف ماده جامد محلول

نتایج بدست آمده مشابه تحقیقات انجام شده توسط Minim و همکاران (۲۰۰۹) که α عصاره آب لیمو را در محدوده دمایی ۲۷۵/۴۵ تا

بوده که ضریب تبیین، R^2 ، ۰/۸۸۳ و با اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار می‌باشد. ضرایب استاندارد β بیانگر این است که افزایش یک درصد ماده جامد محلول کاهش حدود ۶۶ درصدی α را در بر دارد در حالی که افزایش یک درصدی دما باعث افزایش حدود ۶۷ درصدی α خواهد شد (جدول ۲). رابطه خطی بدست آمده بین متغیر وابسته α عصاره مالت و متغیرهای مستقل X_s و T به صورت رابطه (۱۷) می‌باشد.

$$\alpha = 13.739 \times 10^{-8} - 0.14210^{-8} X_s + 0.04510^{-8} T \quad (17)$$

شکل ۴، تغییرات α عصاره مالت را با دما همچنین مدل‌های خطی گذرانده شده بر داده‌های آزمون را نشان می‌دهد.



شکل ۴- تغییرات ضریب انتشار حرارتی با دما

افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش دما C_p ، k و α افزایش یافته اما ρ کاهش می‌یابد. مدل‌های رگرسیونی دو متغیره خطی جهت بررسی تغییرات خواص حرارتی- فیزیکی عصاره مالت با متغیرهای مستقل درصد ماده جامد و دما تعیین گردید. که ضریب تبیین (R^2) مدل‌های ارائه شده برای گرمای ویژه ۰/۹۸۵، هدایت حرارتی ۰/۸۵۸، جرم حجمی ۰/۹۹ و ضریب انتشار حرارتی ۰/۸۸۳ است.

توسط مدل‌های رگرسیونییک متغیره نشان داده شده است (روابط ۱۴، ۱۵ و ۱۶). بهترین روابط جهت برازش تغییرات α عصاره مالت با دما برامقادیر ماده جامد محلول ۶۰، ۷۰ و ۸۰ روابط خطی با ضرایب تبیین، R^2 ، به ترتیب ۰/۷۸۳، ۰/۹۲۹ و ۰/۹۴۰ می‌باشند.

$$\alpha = 5.176 \times 10^{-8} + 0.049 \times 10^{-8} T \quad R^2 = 0.783, X_s = 60 \quad (14)$$

$$\alpha = 2.993 \times 10^{-8} + 0.050 \times 10^{-8} T \quad R^2 = 0.929, X_s = 70 \quad (15)$$

$$\alpha = 3.125 \times 10^{-8} + 0.036 \times 10^{-8} T \quad R^2 = 0.94, X_s = 80 \quad (16)$$

برای بدست آوردن مدل مناسب که تغییرات α عصاره مالت $R^2 = 0.883$ متغیرهای مستقل درصد ماده جامد و دما را نشان بدهد، از رگرسیون چندگانه استفاده گردید مدل بدست آمده یک مدل خطی دو متغیره

نتیجه گیری

نتایج مطالعه و تحقیق روی خواص حرارتی- فیزیکی عصاره مالت تحت تاثیر درصد ماده جامد و دما نشان می‌دهد که پارامترهای ذکر شده تاثیر معنی‌داری روی این خواص دارند. همچنین بین نتایج بدست آمده از این تحقیق و نتایج دیگران که بر روی محصولات دیگر انجام شده است مطابقت معنی‌داری وجود دارد. C_p ، k و α با افزایش درصد ماده جامد محلول کاهش یافته ولی ρ عصاره مالت

منابع

- Beitane I, Straumite E. 2014. Effect of hull-Less barley flakes and malt extract on yoghurt quality *Biosystems Science and Engineering* Vol:8 No:3.
- Cabral RAF, Orrego-Alzate CE, Gabas AL, Telis-Romero J. 2007. Rheological and thermophysical properties of blackberry juice. *Food Science and Technology* (Campinas); 27(3):589-95.
- Coimbra JS, Gabas AL, Minim LA, Garcia Rojas EE, Telis V, Telis-Romero J. 2006. Density, heat capacity and thermal conductivity of liquid egg products. *Journal of Food Engineering*; 74(2):186-90.
- Dix L, Van Staden J. 1981. Auxin and gibberellin-like substances in coconut milk and malt extract. *Cell, Tissue and*

- Organ Culture*;1(1):239-46.
- Fontan Rdcí, Plant Santos LS, Bonomo RCF, Lemos AR, Ribeiro RP, Veloso C. 2009. Thermophysical properties of coconut water affected by temperature. *Journal of Food Process Engineering*;32(3):382-97.
- Gratao ACA, Junior VS, Polizelli MA, TELIS - ROMERO J.2004. Thermal properties of passion fruit juice as affected by temperature and water content. *Journal of Food Process Engineering*;27(6):413-31.
- Minim LA, Telis VR, Minim VP, Alcantara LA, Telis-Romero J.2009. Thermophysical properties of lemon juice as affected by temperature and water content. *Journal of Chemical & Engineering Data*;54(8):2269-72.
- Muramatsu Y, Tagawa A, Kasai T. 2005. Effective thermal conductivity of rice flour and whole and skim milk powder. *Journal of Food Science*;70(4):E279-E87.
- Muramatsu Y, Tagawa A, Kasai T.2005. Thermal conductivity of several liquid foods. *Food Science and Technology Research*;11(3):288-94.
- Pereira CG, Resende JV, Giarola TMO, Pinto SM, Abreu LR. 2013. Thermal conductivity of milk with different levels of moisture and fat: experimental measures and prediction models. *Semina: Ciências Agrárias*;34(3):1153-66.
- Rostapour OR, Joukar A, Gazor HR, Joukar L. 2011. Effect of concentration and temperature on the thermophysical properties of clarified pomegranate juice. *Journal of Nutrition Science & Food Technology*, Jfst No. 37, Vol 9.
- Standard No. 3897, Malt extract: Characteristics and analysis, 2001, Institute of Standard and Industrial Research of Iran (ISIRI)
- Tan I, Wee CC, Sopade PA, Halley PJ.2004. Estimating the specific heat capacity of starch - water - glycerol systems as a function of temperature and compositions. *starch - Stärke*;56(1):6-12.
- Tavman I, Tavman S. 1999. Measurement of thermal conductivity of dairy products. *Journal of Food Engineering*;41(2):109-14.
- Telis - Romero J, Gabas A, Polizelli M, Telis V.2000. Temperature and water content influence on thermophysical properties of coffee extract. *International Journal of Food Properties*;3(3):375-84.
- Yungelson L, Han Z.2007. flow behavior and functional properties of malt extract concentrates. *Journal of Texture Studies*. 20,479 - 497.



Brief report

Effects of temperature and soluble solid content on the thermo-physical properties of malt extract

F. Heidari Dalfard¹- M. Taghizadeh^{*2}-S. M. A. Razavi³

Received: 2014.08.26

Accepted: 2015.02.21

Introduction: Malt extract is one of the malt products obtained from concentrations of water soluble extract of grains such as barley and is a proper alternative to white sugar. It has a high diastasis properties and contains high amount of different vitamins specially the group of vitamin B as well as high amount of fermentable sugars. Therefore, malt extract has high nutritional value and is recommended by nutritionist for children and people who are having growth problems. In addition, it has a high potential to be used as sweetening agent in different food products such as cookies, biscuits, ice cream, chocolates etc. Knowledge on the thermo-physical properties of malt extract such as density, specific heat, thermal conductivity as well as thermal diffusivity is highly necessary for the designing of processing equipments, formulation of derived products, heating and chilling processes, and other unit operations such as pasteurization, concentration, dehydration as well as final safety and quality of formulated products. Since, no research work has been reported on thermo-physical properties of malt extract, the aim of this study was to determine different thermal properties of malt extract as well as investigation of the effect of temperature and soluble solid contents (SSC) of the studied properties.

Materials and methods: Barley malt was purchased from local market. 150 gr of malt was first grounded and added to 600ml water at 46°C and stored for 30 minutes. Then, its temperature was increased using a heater to reach 70°C. 300 ml water was then added to the mixture and stored at 70°C for 60 minutes. Then, the mixture was cooled at room temperature and filtered to gain a sweet solution. The obtained solution was concentrated to 60, 70 and 80 degree of Brix for further experiments.

Specific heat and thermal conductivity of samples were determined using a differential scanning calorimeter (DSC). DSC is a powerful tool which is able to spontaneously measure different thermal properties of samples such as specific heat, thermal conductivity, glass transition temperature, melting point, crystallization point etc. as a function of time and temperature at the desired temperature levels. Density of samples was also measured using a 50^{cc} volumetric pycnometer. 25 grams of samples were first solved in hot water and then were placed in an isothermal bath to measure the density. Thermal diffusivity of samples was determined using the following equation:

$$\alpha = \frac{k}{\rho C_p}$$

Results and discussion: The obtained results on specific heat measurement showed that decreasing SSC from 80 to 60% and increasing the temperature from 25 to 90°C would increase c_p from 2.074 to 3.063 kJ/kg°C in a linear manner. Following equations were obtained to predict specific heat as a function of temperature:

$$C_p = 2.756 + 0.004T \quad R^2 = 0.893, X_s = 60$$

$$C_p = 2.245 + 0.005T \quad R^2 = 0.868, X_s = 70$$

$$C_p = 2.066 + 0.001T \quad R^2 = 0.75, X_s = 80$$

Thermal conductivity measurements were also showed that decreasing SSC from 80 to 60% and increasing

1, 2 and 3. Former M.Sc student, Assistant Professor and Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad.

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

temperature from 25 to 90°C would increase the K values from 0.1196 to 0.347 W/m°C in a linear manner. Increasing temperature would increase molecular movements and therefore it elevates the heat transfer velocity and K increases. Following equations were obtained to predict thermal conductivity as a function of temperature:

$$K = 0.152 + 0.003T \quad R^2 = 0.761, X_s = 60$$

$$K = 0.097 + 0.002T \quad R^2 = 0.851, X_s = 70$$

$$K = 0.114 + 0.001T \quad R^2 = 0.706, X_s = 80$$

In order to develop a model to predict thermal conductivity of malt extract based on its soluble solid content and temperature, multiple regressions was used. The obtained model was a two-parameter linear model with R² of 0.858. The results showed that 1% increase in soluble solid content percentage would cause an increase of 6% in K, while 1% increase in temperature would cause only 49% increase in thermal conductivity value.

Density measurements were also showed that increasing density from 60 to 80% and temperature from 25 to 90°C would increase density of malt extract. Following equations were obtained to predict density as a function of temperature:

$$P = 1328.699 - 0.402T \quad R^2 = 0.999, X_s = 60$$

$$P = 1375.451 - 0.290T \quad R^2 = 0.999, X_s = 70$$

$$P = 1426.201 - 0.286T \quad R^2 = 0.998, X_s = 80$$

Thermal diffusivity of samples was also determined using indirect method for soluble solid content of 60 to 80 and in the temperature range of 25 to 90°C. It was found that thermal diffusivity would increase linearly by decreasing soluble solid content and increasing temperature. Following equations were obtained to predict thermal diffusivity as a function of temperature:

$$\alpha = 5.176 \times 10^{-8} + 0.049 \times 10^{-8}T \quad R^2 = 0.783, X_s = 60$$

$$\alpha = 2.993 \times 10^{-8} + 0.050 \times 10^{-8}T \quad R^2 = 0.929, X_s = 70$$

$$\alpha = 3.125 \times 10^{-8} + 0.036 \times 10^{-8}T \quad R^2 = 0.94, X_s = 80$$

The results of the present work were in agreement with the results reported by other researchers confirming that both SSC and temperature have significant effect on thermo-physical properties of malt extract.

Keywords: malt extract, temperature, soluble solid content, thermal properties, physical properties

Contents

Combined effect of green tea extract and vacuum packaging on quality changes <i>Scomberomorus guttatus</i> during refrigerated storage	542
F. Khedri- A. Khodanazary	
Using of dry ice for astringency removal in persimmon fruit	555
O. Khademi and Y.Nemati Mirak	
Determination of L*a*b* Parameters from RGB of Digital Image by Application of IMG-Pardazesh Color Measurement Instrument	564
A.Jafarpour	
Antioxidant activity of Para-hydroxybenzoic acid and its methyl ester in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion	571
N. Molaahmadibahraseman, R. Farhoosh, A. Sharif	
Extraction of hull-less barley (cultivar Lut) β-glycan using hot water: Optimization using response surface methodology	587
A.Hematian Sourki, A.Koocheiki, M. Elahi, S. M. A.Razavi	
Antioxidant activity of syringic and vanillic acids in Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion	595
N. Molaahmadibahraseman, R. Farhoosh, S. Jhony, A. Sharif	
Study the effect of <i>Lactobacillus plantarum</i> strains isolated from different stages of production Lighvan cheese on <i>Rodotorulamucilaginoso</i> as a spoilage indicator in fruit juice	608
N. Nayyeri, M. R. Edalatian, M. B. Habibi Najafi, M. Bahreyni	
The study of the colloidal properties of nano liposomes containing beta-carotene produced by thermal method	619
B. Ghanbarzadeh, S. Bashiri, H. Hamishekar, J. Dehghannya	
Production and Investigation of physical and mechanical properties of soy protein isolate - tragacanth based composite film	629
H. Separdar, E. Rahimi, I. Shahabi-Ghahfarrokhi, B. Aghabarari	
Effect of different cooking methods on changes of free fatty acids, thiobarbitoric acid, heavy metal (Ni, Cr, Co, Cd, Pb) and sensory properties of grass carp (<i>Ctenopharyngodonidella</i>)	638
S. Golgolipour, A. khodanazary, K. Ghanemi	
Microencapsulation of Spearmint (<i>Mentha Spicata</i>) Oil By Modified Starch	651
S. Hosseinzadeh, A.Bostan, M. H. Hddad Khodaparast, M. Mohebbi	
Detection of surface defects caused by mechanical damages on Mangos of Kelk-e Sorkh variety with the use of color image processing	662
M. R. Golzarian, M. Shamili, O. Doosti Irani, P. Azarkish	
he Effect of Different Concentrations of Glycerol on Properties of Blend Films Based on Polyvinyl Alcohol-<i>AllysumHomolocarpum</i> Seed Gum	677
L. Monjazeb Marvdashti, M. Yavarmanesh , A. Koocheiki	
The Effects of TiO and Montmorillonite Nanofillers on Structural, Thermal and Optical Properties of Starch based Nanobiocomposite Films	695
S. A. Oleyaei, B. Ghanbarzadeh, A. A. Moayedi, F. Abbasi	
Optimization of alkaline fiber extraction from rice bran using response surface methodology	705
S. Rahbaran, A. Aarabi	
Brief report	
Effects of temperature and soluble solid content on the thermo-physical properties of malt extract	715
F. Heidari Dalfard - M. Taghizadeh-S. M. A. Razavi	

Iranian Food Science and Technology Research Journal

Vol. 12

No. 5

2017

Published by: Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Executive Manager: Poorazarang, H.

Editor-in-Chief: Razavi, Seyed M. A.

Executive Director: Taghizadeh, M.

Editorial Board:

Ehsani, M.R.	Prof. in Dairy Technology
Farahnaki, A.	Assoc. Prof. in Food Engineering
Farhoosh, R.	Prof. in Food Chemistry
Fazli Bazzaz, S.	Prof. in Microbiology
Habibi najafi, M.	Prof. in Microbiology
Kadivar, M.	Assoc. Prof. in Food Chemistry
Kashaninejad, M.	Assoc. Prof. in Food Engineering
Khomeiri, M.	Assoc. Prof. in Microbiology
Khosroshahi, A.	Prof. in Dairy Technology
Mortazavi, Seyed A.	Prof. in Microbiology and Biotechnology
Pourazerang, H.	Prof. in Food Chemistry
Razavi, Seyed M. A.	Prof. in Food Engineering
Sahari, M. A.	Prof. in Food Chemistry
Sedaghat, N.	Assoc. Prof. in Food Packaging
Shahidi, F.	Prof. in Microbiology
Varidi, M.J.	Assoc. Prof. in Food technology

Printed by: Ferdowsi University of Mashhad Press, Iran.

Address: The Iranian Food Science & Technology Research Journal, Scientific Publication Office, Food Science and Technology Department, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

P.O.BOX: 91775- 1163

Phone: (98)511-8795618-20(321)

Fax: (98)511-8787430

E-Mail: ifstrj@um.ac.ir

Web Site: http://jm.um.ac.ir/index.php/food_tech/index

This journal is indexed in ISC, SID, and MAGIRAN.

Contents

Combined effect of green tea extract and vacuum packaging on quality changes of <i>Scorpaenopsis guttatus</i> during refrigerated storage.....	542
F. Khedri- A. Khodanazy	
Using of dry ice for astringency removal in persimmon fruit	555
O. Khademi and Y.Nemati Mirak	
Determination of L*a*b* Parameters from RGB of Digital Image by Application of IMG-Pardazesh Color Measurement Instrument	564
A.Jalilpour	
Antioxidant activity of Para-hydroxybenzoic acid and its methyl ester in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion	571
N. MolaahmadiBahramseman, R. Farboosh, A. Sharif	
Extraction of hull-less barley (cultivar Lut) β-glycan using hot water: Optimization using response surface methodology.....	587
A.Hemafar Sourki, A.Koocheki, M. Elahi, S. M. A.Razavi	
Antioxidant activity of syringic and vanillic acids in Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion	595
N. MolaahmadiBahramseman, R. Farboosh, S. Shony, A. Sharif	
Study the effect of <i>Lactobacillus plantarum</i> strains isolated from different stages of production Lighvan cheese on <i>Rodotorula mucilaginosa</i> as a spoilage indicator in fruit juice.....	608
N. Nuyyeri, M. R. Edalatian, M. B. Habibi Najafi, M. Bahreyni	
The study of the colloidal properties of nano liposomes containing beta-carotene produced by thermal method.....	619
B. Ghanburzadeh, S. Hoshiri, H. Hamishekar, J. Deghannya	
Production and investigation of physical and mechanical properties of soy protein isolate - tragacanth based composite film	629
H. Separdar, E. Rahimi, I. Shahabi-Ghahfarrokhi, R. Aghabataei	
Effect of different cooking methods on changes of free fatty acids, thiobarbituric acid, heavy metal (Ni, Cr, Co, Cd, Pb) and sensory properties of grass carp (<i>Ctenopharyngodon idella</i>).....	638
S. Golgolfipour, A. khodanazy, K. Ghanemi	
Microencapsulation of Spearmint (<i>Mentha Spicata</i>) Oil By Modified Starch	651
S. Housseinzadeh, A.Bostan, M. H. Haddad Khodaparast, M. Mohebbi	
Continue Content in cover	