

## عنوان مقالات

- ۱..... بررسی اثر مقادیر مختلف ژلاتین و گوار بر ویژگی‌های حسی، بافتی و رنگ پاستیل بر پایه توت سفید  
شادی بصیری - فخری شهیدی
- ۱۴..... بهینه‌سازی شرایط تولید پپتیدهای ضد اکسایش از هیدرولیز کنسانتره پروتئینی دانه کدو توسط تریپسین به روش  
سطح پاسخ.....  
الهام نورمحمدی، علیرضا صادقی ماهونک، محمد قربانی، مهران اعلمی، معصومه صادقی
- ۲۷..... بهینه‌سازی پارامترهای عملیاتی دیگ پخت در حین استخراج روغن و تولید کنجاله آفتاب‌گردان در  
مقیاس صنعتی.....  
حمید بخش آبادی، محمد رستمی، معصومه مقیمی، ابوالفضل بوژ مهرانی، انه بی بی بهلکه، نگار تورانی
- ۳۸..... ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و مکانیکی گاو دانه (*Vicia ervilia*) و بررسی خصوصیات عملکردی آرد  
حاصل از آن.....  
مسعود تقی‌زاده، بهداد شکرالهی یانچشمه، فاطمه حامدی شهرکی
- ۵۳..... برآورد محاسباتی واحدهای رنگی Lab از RGB با کمک پردازش تصاویر دیجیتالی.....  
سامان آبدانان مهدی‌زاده، سمیه امرایی
- ۶۵..... اثر صمغ‌های دانه ریحان و گزانتان بر ویژگی‌های فیزیکی و رئولوژیکی سس مایونز کم‌چرب.....  
سیما شمسایی، سید محمدعلی رضوی، بهاره عمادزاده، اسماعیل عطای صالحی
- ۷۹..... ارزیابی ویژگی‌های ساختاری و عملکردی پروتئین سه ژنوتیپ مختلف لوبیا (*Phaseolus vulgaris*).....  
نازنین فاطمه رحمتی، آرش کوچکی، مهدی وریدی، رسول کدخدایی
- ۹۲..... بررسی مکانیکی تخریب بافت خلال سیب‌زمینی طی فرآیند سرخ کردن.....  
حسن صباغی، امان محمد ضیائی‌فر، مهدی کاشانی‌نژاد
- ۱۰۵..... تشخیص هم‌زمان باکتری‌های بیماری‌زای لیستریا منوسایتوژنز، اشرشیا کلی O7:H7 و جنس سالمونلا به روش  
multiplex PCR در سبزیجات آماده مصرف.....  
صفیه رجب زاده شانندیز، معصومه بحرینی، میرزا محمدرضا شریف مقدم
- ۱۱۲..... مطالعه تاثیر غلظت نانو ذرات اصلاح شده رس بر برخی ویژگی‌های ریزساختاری و فیزیکی نانوکامپوزیت  
پلی‌اتیلن ترفتالات/نانورس.....  
نازیلا دردمه، اصغر خسروشاهی، هادی الماسی، محسن زندی
- ۱۲۹..... بررسی عددی تغییرات منطقه سرد کنسرو غذایی نشاسته‌ای تحت تاثیر غلظت نشاسته و دمای اولیه پر کردن  
آزاده رنجبر ندامانی، امان محمد ضیایی‌فر، مهدی پروینی، مهدی کاشانی‌نژاد، یحیی مقصودلو

# 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

بهار ۱۳۹۵

شماره ۱

جلد ۱۳

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

استاد، شیمی مواد غذایی ( دانشگاه فردوسی مشهد)

سر دبیر:

دکتر سید محمد علی رضوی

استاد، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

کارشناس امور اجرایی:

دکتر مسعود تقی زاده

استادیار، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

اعضای هیات تحریریه:

دکتر محمدرضا احسانی

استاد، تکنولوژی لبنیات، دانشگاه تهران

دکتر هاشم پورآذرنگ

استاد، شیمی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر محمدباقر حبیبی نجفی

استاد، میکروبیولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر اصغر خسروشاهی

استاد، تکنولوژی لبنیات، دانشگاه ارومیه

دکتر مرتضی خمیری

دانشیار، میکروبیولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دکتر سید محمد علی رضوی

استاد، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر محمد علی سحری

استاد، شیمی مواد غذایی، دانشگاه تربیت مدرس

دکتر فخری شهیدی

استاد، میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر ناصر صداقت

دانشیار، بسته بندی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر عسگر فرحناکی

دانشیار، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه شیراز

دکتر رضا فرهوش

استاد، شیمی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر بی بی صدیقه فضلی بزاز

استاد، میکروبیولوژی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر مهدی کاشانی نژاد

دانشیار، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و

منابع طبیعی گرگان

دکتر مهدی کدیور

دانشیار، شیمی مواد غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان

دکتر سید علی مرتضوی

استاد، میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر محمدجواد وریدی

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](http://jm.um.ac.ir/index.php/food_tech/index) به صورت مقاله کامل نمایه شده است.

# بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## مندرجات

- ۱ بررسی اثر مقادیر مختلف ژلاتین و گوار بر ویژگی‌های حسی، بافتی و رنگ پاستیل بر پایه توت سفید  
شادی بصیری - فخری شهیدی
- ۱۴ بهینه‌سازی شرایط تولید پپتیدهای ضد اکسایش از هیدرولیز کنسانتره پروتئینی دانه کدو توسط تریپسین به روش سطح پاسخ  
الهام نورمحمدی، علیرضا صادقی ماهونک، محمد قربانی، مهران اعلمی، معصومه صادقی
- ۲۷ بهینه‌سازی پارامترهای عملیاتی دیگ پخت در حین استخراج روغن و تولید کنجاله آفتاب‌گردان در مقیاس صنعتی  
حمید بخش آبادی، محمد رستمی، معصومه مقیمی، ابوالفضل بوژ مهرانی، انه بی بی بهلکه، نگار تورانی
- ۳۸ ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و مکانیکی گاو دانه (*Vicia ervilia*) و بررسی خصوصیات عملکردی آرد حاصل از آن  
مسعود تقی‌زاده، بهداد شکرالهی یانچشمه، فاطمه حامدی شهرکی
- ۵۳ برآورد محاسباتی واحدهای رنگی Lab از RGB با کمک پردازش تصاویر دیجیتالی  
سامان آبدانان مهدی‌زاده، سمیه امرایی
- ۶۵ اثر صمغ‌های دانه ریحان و گزانتان بر ویژگی‌های فیزیکی و رئولوژیکی سس مایونز کم‌چرب  
سیما شمسایی، سید محمدعلی رضوی، بهاره عمادزاده، اسماعیل عطای صالحی
- ۷۹ ارزیابی ویژگی‌های ساختاری و عملکردی پروتئین سه ژنوتیپ مختلف لوبیا (*Phaseolus vulgaris*)  
نازنین فاطمه رحمتی، آرش کوچکی، مهدی وریدی، رسول کدخدایی
- ۹۲ بررسی مکانیکی تخریب بافت خلال سیب‌زمینی طی فرآیند سرخ کردن  
حسن صباغی، امان محمد ضیائی‌فر، مهدی کاشانی‌نژاد
- ۱۰۵ تشخیص هم‌زمان باکتری‌های بیماری‌زای لیستریا منوسایتوژنز، اشرشیا کلی *O7:H7* و جنس سالمونلا به روش multiplex PCR در سبزیجات آماده مصرف  
صفیه رجب زاده شاندیز، معصومه بحرینی، میرزا محمد رضا شریف مقدم
- ۱۱۷ مطالعه تاثیر غلظت نانو ذرات اصلاح شده رس بر برخی ویژگی‌های ریز ساختاری و فیزیکی نانو کامپوزیت پلی‌اتیلن ترفتالات/نانورس  
نازیلا دردمه، اصغر خسروشاهی، هادی الماسی، محسن زندی
- ۱۲۹ بررسی عددی تغییرات منطقه سرد کنسرو غذایی نشاسته‌ای تحت تاثیر غلظت نشاسته و دمای اولیه بر کردن  
آزاده رنجبر ندامانی، امان محمد ضیایی‌فر، مهدی پروینی، مهدی کاشانی‌نژاد، یحیی مقصودلو
- ۱۴۱ بررسی تاثیر آغازگر لاکتوباسیلوس غالب جدا شده از خمیر ترش سنتی بر میزان بیات‌ی نان قالبی حاصل از آرد کامل گندم  
عباس عابدفر، علیرضا صادقی، مهدی کاشانی‌نژاد، مرتضی خمیری، مهران اعلمی
- ۱۵۵ کاربرد پس از برداشت نانو کربنات کلسیم بر فعالیت آنزیمی و برخی خصوصیات کیفی در سیب تازه بریده رقم 'گلدن دلشز'  
محمد رضا اصغری، راحله جمی، علیرضا فرخزاد نانساء
- ۱۶۷ استخراج عصاره خام از برگ گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) و بررسی توانایی جذب رادیکال آزاد آن  
حسین جوینده، وحید سماواتی

تغییرات خصوصیات عملکردی و پایداری پروتئین‌های سویای متصل شده به دکستران با استفاده از واکنش طبیعی مایلارد  
ساره بوستانی، مرضیه موسوی نسب، محمود امینلاری، مهرداد نیاکوثری، غلامرضا مصباحی

کوتاه پژوهشی

بررسی تاثیر نگهداری سرد ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) بر خصوصیات کیفی سوریمی تولیدی  
بهاره شعبان‌پور، منصوره نیری، زینب نوری هاشم آباد



## بررسی اثر مقادیر مختلف ژلاتین و گوار بر ویژگی‌های حسی، بافتی و رنگ پاستیل بر پایه توت سفید

شادی بصیری<sup>۱\*</sup> - فخری شهیدی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۱۴

### چکیده

توت سفید میوه‌ای با ارزش تغذیه‌ای بالاست. توت به علت داشتن درصد رطوبت بالا، عمر نگهداری زیاد ندارد. توت خشک و شیر توت از جمله فراورده‌های متداول بدست آمده از توت هستند. هدف از این پژوهش، تولید پاستیل توت به‌عنوان فراورده‌ای نوین از توت با زمان نگهداری طولانی و ارزش افزوده بالا است که بتواند بصورت یک میان وعده سالم و در مواردی جایگزین قند (برای مصرف با چای و قهوه) مطرح باشد. در این تحقیق برای تهیه پاستیل توت، از ترکیبات هیدروکلوئیدی شامل ژلاتین (صفر، ۱ و ۲ درصد) و گوار (صفر، ۰/۵ و ۱ درصد)، استفاده شد. ویژگی‌های حسی، بافتی و پارامترهای رنگی ( $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$ ) نمونه‌های حاصل مورد بررسی قرار گرفتند. افزایش غلظت گوار باعث افزایش میزان پیوستگی، الاستیسیته و قابلیت جویدن و کاهش چسبندگی نمونه‌ها شد. در بین فرمول‌های مورد بررسی، پاستیل توت حاوی ۱ درصد گوار و ۱ درصد ژلاتین با داشتن کمترین میزان سختی، چسبندگی به دندان و قابلیت جویدن (اهم خواص حسی و بافتی مشترک) و همچنین ویژگی‌های رنگی مناسب، به‌عنوان فرمول بهینه تعیین شد.

**واژه‌های کلیدی:** پاستیل توت، خصوصیات بافتی، ویژگی‌های حسی، ویژگی‌های رنگی، هیدروکلوئید.

### مقدمه

شرایط آب و هوایی از اواسط خرداد تا اوایل مرداد ماه برداشت می‌شود. توت درختی نور پسند، کم‌توقع و مقاوم به سرما و شرایط محیطی است و تا ۲۰۰ سال عمر می‌کند. پراکندگی جغرافیایی توت بیشتر در مناطق معتدل و نیمه‌گرمسیری جهان است. میوه آن استوانه‌ای یا بیضی شکل کشیده است. طول میوه آن ۱ تا ۳ سانتی‌متر است و تک تک دانه‌ها با میوه‌های ساده خود دور محور اصلی میوه چسبیده و یک میوه مرکب را به وجود می‌آورند. توت بصورت تازه، خشک یا شیر توت نیز مصرف می‌شود. اهمیت توت از آنجا مشخص می‌شود که تقریباً ۴۰۰۰ سال پیش از میلاد مسیح مشاهده شده است (شهرستانی، ۱۳۷۷).

توت میوه‌ای پر خاصیت و با کالری زیاد است. با داشتن آهن و ویتامین C برای کسانی که دچار کم‌خونی هستند، توصیه می‌شود. این میوه حاوی فیبر فراوان بوده و فیبرهای نامحلول موجود در توت کالری موجود در بدن را کاهش می‌دهد. ویتامین A توت موجب رشد ناخن و تقویت چشم می‌شود. توت منبع خوبی از مواد معدنی مانند پتاسیم که نقش مهمی در تنظیم ضربان قلب و فشار خون دارد و همچنین منگنز و منیزیم است. منگنز نیز در بدن به‌عنوان یک کوفاکتور برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سوپر اکسید دیسموتاز عمل می‌کند. توت سرشار از ویتامین‌های گروه B کمپلکس و ویتامین K

توت سفید با نام علمی (*Morus alba* L.) متعلق به گونه موروس<sup>۳</sup> و از خانواده موراسه<sup>۴</sup> است. تاکنون ۲۴ گونه و حداقل ۱۰۰ واریته از آن شناسایی شده است (Machii, 2000). درخت توت بومی کشور چین است ولی امروزه در بسیاری از کشورهای جهان مثل تایلند، هند، ترکیه، ارمنستان، سوریه، ایران و تمام کشورهای اطراف دریای مدیترانه وجود دارد. بر اساس سوابق علمی بنظر می‌رسد که توت سفید در دوران هخامنشیان به ایران وارد شده است. این درخت توانسته هم در نواحی مرطوب و پر آب شمال ایران و هم در نقاط خشک و کم‌آب مانند خراسان و آذربایجان پرورش یابد. توت گیاهی یک پایه است. در اواسط اردیبهشت ماه به گل نشست و بسته به

۱- استادیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

(\*) - نویسنده مسئول: (Email: shbasiri35@yahoo.com)

DOI: 10.22067/iftstrj.v1395i0.42322

3 Morus

4 Moraceae

می‌باشد. همچنین حاوی مقادیر بسیار خوبی از ویتامین B<sub>6</sub>، نیاسین، ریوفلاوین و اسید فولیک است. این ویتامین‌ها به عنوان کوفاکتور عمل می‌کنند و به بدن در سوخت‌وساز کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها کمک می‌کنند. توت به علت داشتن انواع ویتامین‌های گروه B در کاهش اضطراب و عصبانیت نیز موثر است. توت سفید به عنوان منبع غنی از فلاوونوئیدها است. اسیدهای چرب غیراشباع غالب موجود در توت سفید، اسید لینولئیک و اسید اولئیک می‌باشد (Lin and Tang, 2007, 2008).

از آنجا که بیشتر باغداران برای حفظ و پرورش درخت توت از سم و کود استفاده نمی‌کنند (شهرستانی، ۱۳۷۷)، بنابراین بنظر می‌رسد از نظر تغذیه‌ای مصرف این میوه در زمان رسیدگی و همچنین پس از فراوری مناسب باشد.

کمتر از یک سوم تولید سالانه میوه توت به مصرف تازه‌خوری می‌رسد. با توجه به حساس بودن این محصول، حمل و نقل و نگهداری دشوار آن به علت بالا بودن میزان رطوبت، مصرف تازه این محصول تنها در بازارهای محلی و منطقه‌ای امکان‌پذیر است. در بازدیدهای به عمل آمده از بعضی باغات سطح استان خراسان رضوی، به خصوص منطقه مشهد، نبود دانش مناسب برای فراوری این محصول باعث افزایش ضایعات و گاهی عدم تمایل باغدار به برداشت محصول می‌شود. قابل ذکر است در سیستم سنتی رایج، بخشی از توت جمع‌آوری شده و خشک می‌شود. بهینه‌سازی روش‌های تولید فراورده‌های مختلف از توت، کمک به کاهش ضایعات و ایجاد ارزش افزوده، رشد و توسعه صنایع روستایی و منطقه‌ای در خصوص تولید فراورده‌های مختلف برای مصرف در بازارهای داخلی و خارجی می‌شود (قیافه داوودی و همکاران، ۱۳۸۸).

در بیشتر کشورها، کشت و پرورش درخت توت، به منظور پرورش کرم ابریشم است ولی در کشورهای ترکیه و یونان تولید میوه، مصرف و فراوری آن مد نظر است در ترکیه از انواع مختلف توت محصولاتی نظیر شیر توت، مارمالاد، مربا، آبمیوه و محصولات بهداشتی - آرایشی تهیه می‌شود (Sengul, 2005; Ercisli, 2004).

در مواد غذایی، ترکیبات پلی‌فنلی بصورت گیرنده‌های رادیکال - های آزاد یا کمپلکس دهنده‌های یون‌های فلزی عمل می‌کنند. اکثر گیاهان به عنوان منابع اسیدهای فنلی، فلاوونوئیدها و ترکیبات وابسته شناخته شده‌اند. گزارش‌های زیادی در خصوص ترکیبات فنلی استخراج شده از گیاهان با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در صنایع غذایی موجود است. اسیدهای فنلی از جمله سینامیک، کلروژنیک و کاتشین‌ها دارای اثرات ضدسرطانی و ضدجوشی هستند که به وفور در میوه‌های مختلف از جمله انواع توت یافت می‌شوند (Koyuncu, 2004; Karakaya, 2008; Zaderowski, 2005; Nakamura, 2003). گلوکز و فروکتوز عمده‌ترین قندهای شش کربنی و ساکارز مهمترین دی‌ساکارید توت است (Ozgen, 2009).

(Akbulut, 2006). مهمترین اسیدهای آلی موجود در توت اسید مالیک (۱/۳۲ تا ۴/۴۷ درصد وزن تازه) و اسید سیتریک (۰/۳۹ تا ۱/۰۸ درصد وزن تازه) هستند (Gundogdu, 2011).

توت‌ها غنی از اسیدهای چرب ضروری نظیر اسیدهای لینولئیک و لینولئیک و اولئیک بوده که انسان قادر به سنتز آنها نمی‌باشد و تنها از طریق رژیم غذایی به بدن می‌رسند. این ترکیبات شیمیایی بسیاری از فعالیت‌های بدن را تنظیم و کنترل می‌کنند. توت سفید منبع غنی از عناصر معدنی نظیر ایت (۰/۸۳ درصد)، فسفر (۲۳۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)، پتاسیم (۱۱۴۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)، کلسیم (۱۳۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)، منیزیم (۱۰۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)، سدیم (۶۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)، آهن (۴/۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) و منگنز (۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) می‌باشد (Lin and Tang, 2007; Pawlosky, 1996).

از نظر میزان ضایعات سالانه توت، آمار دقیقی در دست نمی‌باشد ولی تولید هر فراورده‌ای از توت می‌تواند کمکی در جهت کاهش میزان ضایعات توت بوده و بازار خوبی برای مصرف محصولات بدست آمده در داخل است و حتی به سایر کشورها نیز صادر گردد.

از جمله فراورده‌های جدید بدست آمده از میوه‌ها، پاستیل‌های میوه‌ای هستند که ارزش تغذیه‌ای بالایی دارند. پاستیل‌ها نوعی آب نبات نرم هستند که از میوه‌های مازاد بر مصرف تازه‌خوری، تهیه می‌شوند. به دلیل کاهش فعالیت آب، زمان ماندگاری زیاد دارند. ترکیبات موجود در پاستیل (طعم‌دهنده‌ها، ترکیبات دارویی، اسانس‌ها و مواد موثره مختلف) به تدریج با جوییدن آرام در دهان آزاد شده و تاثیر خود را اعمال می‌کنند. از جمله مواد تشکیل‌دهنده پاستیل‌ها، ترکیبات قوام‌دهنده نظیر گوار، آگار، ژلاتین، پکتین و صمغ‌های مختلف مانند صمغ عربی هستند که باعث ایجاد پیوند بین ترکیبات در یک محیط هیدروکلوئیدی و تشکیل امولسیون و بهبود بافت می‌شوند. بسته به نوع این ترکیبات، سرعت حل شدن محصول و میزان آزاد سازی ترکیبات موجود متفاوت است (Doublier and Cuvelier, 1996). تولید چنین محصولاتی در مقیاس تجاری علاوه بر جلوگیری از ضایعات میوه، به دلیل طبیعی بودن مواد اولیه آن و ارزش غذایی بالا به‌ویژه از نظر میزان مواد معدنی، ویتامین‌ها و فیبر، زمان ماندگاری بالا، طعم مطلوب و میزان انرژی‌زایی می‌تواند مورد توجه قشر وسیعی از جامعه به ویژه کودکان، زنان باردار و ورزشکاران قرار بگیرد. همچنین لازم به ذکر است پاستیل‌های رایج موجود در بازار بیشتر از کشورهای خارجی وارد می‌شوند و مخلوطی از شیرین‌کننده، قوام‌دهنده، رنگ، اسانس و سایر افزودنی‌های مصنوعی می‌باشند و کمتر از فراورده‌های طبیعی نظیر میوه‌ها و سبزی‌ها (پوره، عصاره و آب) در فرمول آنها استفاده می‌شود بنابراین از نظر ارزش غذایی ضعیف هستند (مقامی کیا و همکاران، ۲۰۱۳).

در فراورده‌هایی مانند پاستیل میوه‌ای که حاوی مقادیر ناچیز آب

مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش امکان تولید فرآورده‌ای جدید از کدو حلوائی بر پایه پوره میوه، هیدروکلوئید، مواد شیرین کننده مورد بررسی قرار گرفت. ارزیابی حسی بر اساس سنجش ویژگی‌های اصلی محصول جدید (رنگ، بافت و طعم) انجام گرفت. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که پذیرش این فرآورده در حد بسیار خوب و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی بررسی شده در محدوده قابل قبول با ماندگاری بالا بودند.

خلیلیان و همکاران (۱۳۹۰)، ویژگی‌های حسی و فعالیت آب پاستیل میوه‌ای بر پایه پوره طالبی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که تغلیظ‌کننده‌های موجود در فرمول (پکتین و گزانتان) روی رنگ و طعم نمونه‌های پاستیل طالبی اثر معنی‌دار داشتند ( $p \leq 0.05$ ). همچنین مقدار و نوع تغلیظ‌کننده در فرمول ساخت پاستیل بر فعالیت آب تاثیر داشت، بطوری که با افزایش غلظت گزانتان و پکتین، فعالیت آب به ترتیب افزایش و کاهش یافت. همچنین ویژگی‌های بافتی و طعمی نسبت به ویژگی‌های ظاهری نمونه‌ها، تاثیر بیشتری بر پذیرش کلی پاستیل طالبی داشتند. با بررسی پژوهش‌های انجام شده بر محصولات بدست آمده از توت، مشخص گردید که هیچ‌گونه تحقیقی مبتنی بر ارائه فرمول محصولات جدید از توت نظیر انواع پاستیل در جهان صورت نگرفته است.

هدف از اجرای طرح، تعیین مقادیر ژلاتین و هیدروکلوئید گوار مناسب در فرمولاسیون تولید پاستیل از پوره توت سفید به منظور تولید محصولی با کیفیت بالا و عمر انباری مطلوب می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

برای اجرای طرح، توت سفید<sup>۱</sup> از نوع رسمی (خاردار) در مرحله رسیدگی کامل، از منطقه شان‌دیز مشهد تهیه شد. از آنجا که رقم مذکور توت سفید، درصد قند بالاتری نسبت به سایر انواع توت سفید داشته، بنابراین برای تهیه پاستیل توت مورد استفاده قرار گرفت. گوار از شرکت سیکما، آگار از شرکت کیولب کانادا، ژلاتین، اسیدسیتریک و گلوکز از یکی از فروشگاه‌های سطح شهر مشهد خریداری شدند.

## تهیه پوره توت

ابتدا توت‌ها تمیز، و بعد از جدا کردن میوه‌های خراب و نارس، به مدت ۵ دقیقه تحت تاثیر حرارت مستقیم در حال جوشیدن مخلوط آب و توت قرار گرفتند تا ضمن بلانچینگ اولیه در آب و بخار آب، بافت میوه نرم شود. سپس برای ایجاد پوره‌ای با بافت یکنواخت، میوه‌ها

می‌باشد، ویسکوزیته و فعالیت آب دو عامل موثر بر میزان انتشار و آزادسازی ترکیبات مولد عطر و طعم می‌باشند (Hansson, 2001). هیدروکلوئیدها گروه بزرگی از پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها هستند که با دارا بودن ویژگی‌های عملکردی نه تنها در صنعت غذا، بلکه در صنایع مختلف استفاده وسیعی دارند. هیدروکلوئیدها در پذیرش کلی فرآورده‌های غذایی از طریق افزایش پایداری فیزیکی غذا و ایجاد احساس دهانی مطلوب نقش ویژه‌ای دارند. از جمله کاربردهای آنها در ایجاد محلول‌های آبی ژلی و تغلیظ‌کننده کف‌های پایدار، امولسیون، ممانعت از تشکیل کریستال‌های شکر و یخ و کنترل رهاسازی طعم‌ها می‌باشد. بافت ژل‌های تشکیل شده تحت تاثیر نوع هیدروکلوئید مورد استفاده است. همچنین تحقیقات در این زمینه نشان داده که هیدروکلوئیدها نه تنها باعث بهبود قوام و ویسکوزیته محصول می‌شوند، بلکه تاثیر مهمی بر رهاسازی عوامل ایجاد کننده طعم و بو دارند (Guichard, 1991).

Carr و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که بسته به نوع و غلظت هیدروکلوئید مورد استفاده اثرات متفاوتی در بافت و خواص حسی محصول ایجاد می‌شود. همچنین بیان کردند که بافت ژل در آزادسازی ترکیبات ایجاد کننده طعم موثر می‌باشد. Marty و Guinard (۱۹۹۵)، میزان آزادسازی طعم را از ژل‌های نشاسته ذرت، ژلاتین و کاراگینان در سه نوع ژل از نظر بافتی (نرم، متوسط و سفت) مقایسه کردند. نتایج نشان داد میزان طعم آزاد شده از ژل‌های با یک میزان سفتی حاصل از نشاسته ذرت و ژلاتین نسبت به کاراگینان بیشتر بود. همچنین میزان طعم اندازه‌گیری شده در ژل‌های سفت نسبت به ژل‌های نرم و متوسط، کمتر بود.

تحقیقات وسیع در این زمینه نشان داده است که نوع تغلیظ‌کننده بکار رفته در فرمول ماده غذایی و بافت ناشی از آن، از عوامل اصلی در میزان طعم ایجاد شده، هستند (Guichard, 1991؛ Cayot, 1998). امروزه رنگ غذا و قدرت پردازش تصاویر به عنوان یک فاکتور ارزیابی کیفیت بکار می‌رود و در بسیاری از محصولات غذایی، رنگ رابطه مستقیم با کیفیت آن دارد. بنابراین اندازه‌گیری دقیق رنگ اولین قدم در کنترل موفق آن است. رحیمی دوگاهی و همکاران (۱۹۹۲) به بررسی پارامترهای رنگی ( $b^* a^* L^*$ ) پاستیل بر پایه گوجه‌فرنگی پرداختند. نتایج نشان داد که مقادیر هیدروکلوئید مصرفی در تهیه پاستیل گوجه‌فرنگی و نحوه فرایند تهیه پوره گوجه‌فرنگی از عوامل اصلی تاثیرگذار بر پارامترهای رنگی محصول تولید شده هستند.

تولیدکنندگان محصولات غذایی باید آگاه باشند که لازمه سود بردن، تضمین یکنواختی در کیفیت بالای رنگ است. الجوهیمی و همکاران (۲۰۱۴)، طی پژوهشی، پارامترهای رنگی ( $b^* a^* L^*$ ) و ضرایب هیو و کروما (را درباره گوجه‌فرنگی‌های پوشش داده شده با صمغ عربی در طول مدت نگهداری مورد بررسی قرار دادند.

شهیدی و همکاران (۱۳۸۹)، فرمولاسیون پاستیل کدو حلوائی را

<sup>1</sup> *Morus alba* L.

توسط دستگاه آبمیوه‌گیری خرد و له شده و به کمک پارچه توری با منافذ ریز در دو مرحله صاف شدند. در نهایت، پوره‌ها در بسته‌های پلاستیکی بست بندی و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

#### آماده‌سازی نمونه‌ها

اجزای فرمولاسیون شامل ۸۰ درصد وزنی/ وزنی پوره توت، ۲۰ درصد وزنی/ وزنی مخلوطی از گوار در سه سطح (۰، ۰/۵ و ۱ درصد) و ژلاتین در سه سطح (۰، ۱ و ۲ درصد)، آگار، اسیدسیتریک و پودر

گلوکز بودند (جدول ۱). برای افزودن ژلاتین و آگار به فرمول‌ها نیاز به شرایط خاص بود. ابتدا ژلاتین را بصورت محلول (۱۰ درصد) در آورده، برای این منظور هر مقدار ژلاتین با نسبت مشخص آب مقطر با استفاده از یک همزن مخلوط و درجه حرارت به ۶۰ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. عمل همزدن تا زمانی که کدورت محلول برطرف شده و محلول شفاف ایجاد شود، ادامه داشت. برای افزودن آگار به فرمول لازم بود مانند ژلاتین بصورت محلول (۷ درصد) درآید. ختم عمل با شفاف شدن محلول، مشخص می‌شود.

جدول ۱- مقادیر ترکیبات مختلف موجود در فرمول‌های تهیه پاستیل توت

| ترکیب                   | فرمول ۱ | فرمول ۲ | فرمول ۳ | فرمول ۴ | فرمول ۵ | فرمول ۶ | فرمول ۷ | فرمول ۸ | فرمول ۹ |
|-------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| پوره توت (گرم)          | ۱۰۰     | ۱۰۰     | ۱۰۰     | ۱۰۰     | ۱۰۰     | ۱۰۰     | ۱۰۰     | ۱۰۰     | ۱۰۰     |
| آگار (درصد)             | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       |
| گلوکز پودری (درصد)      | ۴       | ۴       | ۴       | ۴       | ۴       | ۴       | ۴       | ۴       | ۴       |
| گوار (درصد)             | ۰       | ۰/۵     | ۱       | ۰       | ۰/۵     | ۱       | ۰       | ۰/۵     | ۱       |
| ژلاتین (درصد)           | ۰       | ۰       | ۰       | ۱       | ۱       | ۱       | ۲       | ۲       | ۲       |
| اسید سیتریک (میلی لیتر) | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       |

#### آزمایش‌های انجام شده

##### اندازه‌گیری pH

با pH متر (مدل هانا ساخت کشور پرتغال)، pH پوره توت اندازه‌گیری شد (پروانه، ۱۳۷۱).

##### اندازه‌گیری بریکس

به کمک رفاکتمتر چشمی (مدل کارلزلس ساخت کشور آلمان) درصد مواد جامد محلول پوره توت تعیین شد (پروانه، ۱۳۷۱).

##### اندازه‌گیری رطوبت

بمنظور تعیین میزان رطوبت نمونه‌های پاستیل توت، ۱۰ گرم از هر یک از نمونه‌ها درون پلیت شیشه‌ای قرار گرفت و درون آون تحت خلا با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲/۵ اینچ جیوه تا رسیدن به وزن ثابت قرار داده شد. پس از خارج کردن از درون آون و توزین، میزان رطوبت بر مبنای وزن مرطوب محاسبه شد (Tsami, 1990).

##### اندازه‌گیری فعالیت آبی

بمنظور تعیین فعالیت آبی، وزن‌های مساوی از هر نمونه را کاملاً

ابتدا پوره توت در بشر توزین شد (۱۰۰ گرم) و در حمام بن‌ماری با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس محلول بدست آمده از ژلاتین با درصد مشخص، به ظرف حاوی نمونه اضافه شد. سپس محلول آگار به فرمول‌ها اضافه شد (ظرف حاوی نمونه در حمام بن‌ماری قرار داشت). گوار بصورت پودر به همراه گلوکز (جهت جلوگیری از کلوخه شدن گوار) نیز به مخلوط اضافه شد. در انتها بمنظور بهبود خصوصیات حسی نمونه و کاهش pH، یک میلی‌لیتر اسید سیتریک ۴۰٪ (آب- حجمی/ حجمی) به مخلوط اولیه پاستیل اضافه شد. سپس مخلوط آماده درون قالب‌های مشبک از جنس استیل ضد زنگ در حفره‌هایی با ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر ریخته و قالب‌ها به مدت ۲ ساعت برای سفت شدن و آبگیری کامل در داخل یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس پاستیل‌های حاصل از درون حفره‌های قالب خارج شدند و نمونه‌ها به مدت ۷ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد درون آون یا خشک‌کن، قرار گرفته تا خشک شدند. پس از مرحله خشک شدن، نمونه‌ها در داخل کیسه‌های پلاستیکی پلی‌اتیلنی زیپ‌دار بمنظور حفظ رطوبت و جذب اکسیژن توسط محصول، بسته‌بندی و تا زمان انجام آزمایش در دمای محیط نگهداری شدند.

مسطح (HP Scanjent 4010) با رزولوشن ۲۰۰ dpi و نرم‌افزار در فضای RGB<sup>۱۳</sup> تهیه شدند. در مرحله بعد برای بدست آوردن سطوح یکسان از هر نمونه با استفاده از نرم‌افزار فتوشاپ (Adobe, V. 7. 0) تصاویر در اندازه ۱۵۰×۱۳۰ پیکسل جدا و با فرمت BMP در فضای رنگی RGB ذخیره شدند (Sun, 2008).

پارامترهای رنگی در فضای  $L^* a^* b^*$  با استفاده از نرم‌افزار Image J 1.40g به وسیله Plugin با عنوان Color Space Converter استخراج شدند.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تحلیل داده‌ها، در قالب آزمون فاکتوریل بصورت کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. ژلاتین در سه سطح (صفر، ۱ و ۲ درصد) و گوار در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۱ درصد) به عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند. برای تحلیل آماری پارامترهای مورد مطالعه از نرم‌افزار ۱۶ MINITAB استفاده شد. میانگین‌ها در قالب آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

### نتایج و بحث

#### فعالیت آب و ماده خشک

مقادیر فعالیت آبی و ماده خشک نمونه‌های مختلف پاستیل در جدول شماره ۲، آورده شده است. با تعیین مقادیر فعالیت آبی و ماده خشک نمونه‌ها می‌توان کیفیت حسی و زمان مناسب نگهداری آن‌ها را ارزیابی کرد.

بر اساس جدول ۲، کمترین میزان ماده خشک یا بیشترین میزان رطوبت مربوط به نمونه شماره ۶ یعنی نمونه حاوی ۱٪ گوار و ۱٪ ژلاتین است. مطابق آنچه در مورد بافت نمونه‌ها در صفحات آتی آمده است کمترین میزان سختی بافت در نمونه شماره ۶ تعیین شد. هیدروکلوئیدها، با جذب و درگیر کردن آب در نمونه و ممانعت از خروج آن از ماده، مانع سفتی بافت می‌شوند. این موضوع بر ویژگی‌های رنگی و شفافیت نمونه اثر مثبت دارد.

Williams و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند صمغ گوار به دلیل ساختمان هیدروفیلی خود توانایی حفظ آب بالایی داشته که منجر به افزایش رطوبت نمونه‌ها شده است. این ماده، نوعی گالاکتومانان بلند زنجیره با جرم مولکولی زیاد می‌باشد که به دلیل ماهیت هیدروژلی و جذب آب زیاد، قابلیت درگیر کردن آب را در ساختار خود دارا می‌باشد.

Goldstein در سال ۱۹۷۳ اظهار داشت که صمغ گوار با توجه به

خرد کرده و فعالیت آبی نمونه توسط دستگاه سنجش فعالیت آبی<sup>۱</sup> یا aw متر (مدل لب مستر<sup>۲</sup> ساخت کشور سوئیس) در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد (Primo- Martin, 2008).

### اندازه‌گیری بافت

در این پژوهش برای اندازه‌گیری ویژگی‌های بافتی نمونه‌های پاستیل تولید شده، از دستگاه بافت سنج<sup>۳</sup> (مدل کیوتی اس ۲۵ سی ان اس فارنل<sup>۴</sup>) ساخت کشور انگلستان و مجهز به نرم‌افزار کامپیوتری، استفاده شد. هر یک از نمونه‌های پاستیل، توسط آزمون TPA<sup>۵</sup>، در دو سیکل رفت و برگشتی (دو رفت و دو برگشت)، توسط پروب سیلندری صفحه گرد با قطر ۳/۵ سانتی‌متر، سرعت حرکت پروب ۶۰ میلی‌متر بر دقیقه و نیروی ۵ گرم قرار گرفته و تا ۳۰ درصد ارتفاع اولیه نمونه فشرده شده<sup>۶</sup> و سپس فشارزدایی<sup>۷</sup> شدند (خزائی پول و همکاران، ۱۳۹۲). ویژگی‌های بافتی مورد بررسی حاصل از منحنی نیرو- تغییر شکل شامل سختی<sup>۸</sup> (حداکثر نیروی مورد نیاز برای فشرده شدن نمونه در سیکل اول)، پیوستگی<sup>۹</sup> (مقدار افزایش طول نمونه قبل از شکسته شدن بافت)، الاستیسیته<sup>۱۰</sup> (توانایی نمونه برای بازگشت به شکل اولیه بعد از حذف نیرو)، چسبندگی<sup>۱۱</sup> (کار مورد نیاز برای غلبه بر نیروی جاذبه بین سطوح مواد در تماس با یکدیگر)، میزان جویدن<sup>۱۲</sup> (کار لازم برای جویدن و خمیر کردن نمونه) می‌باشند (Kealy, 2006).

### ارزیابی حسی

آزمون حسی توسط ۱۰ داور آموزش دیده انجام شد (Korus et al. 2009). بمنظور ارزیابی نمونه‌ها از مقیاس هدونیک ۵ امتیازی استفاده شد. ۶ صفت حسی شامل طعم، سفتی، الاستیسیته، قابلیت جویدن، چسبناکی و پذیرش کلی نمونه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

### تصویرگیری و پردازش رنگ

بمنظور بررسی رنگ نمونه‌های تولید شده از هر نمونه پاستیل توت، ۳ قطعه بصورت تصادفی انتخاب و تصاویر با استفاده از اسکنر

- 1 Water Activity
- 2 Lab Master
- 3 Texture Analyzer
- 4 QTS25 CNS Farnell
- 5 Texture profile analyzer
- 6 Compression
- 7 Decompression
- 8 Hardness
- 7 Cohesiveness
- 8 Springiness
- 9 Adhesiveness
- 10 Chewiness

خصوصیات عملکردی به عنوان پایدار کننده و برای حفظ رطوبت موجود در فیبرهای محصول مورد نظر، در فرمولاسیون مواد غذایی استفاده می‌شود.

در ارتباط با اثر گوار بر افزایش رطوبت و کاهش سختی بافت، Ghodke (۲۰۰۷)، نتایج مشابهی در مورد چاپاتی گزارش نمود. رضایی (۱۳۹۱)، در بررسی اثر متغیرهای ژلاتین و نشاسته بر رطوبت پاستیل آلو گزارش کرد که ژلاتین توانایی خوبی در حفظ آب دارد و این مسئله منجر به افزایش میزان رطوبت در نمونه‌ها می‌شود. مقادیر فعالیت آبی فرمول‌های مختلف پاستیل توت در جدول ۲، آورده شده است. بسیاری از ویژگی‌های فیزیکی ماده غذایی در ارتباط با فعالیت آب می‌باشد. در رطوبت‌های پایین برهمکنش بین

مولکول‌های آب و ترکیبات غذایی تشدید می‌شود. همچنین فعالیت آبی ماده در ایجاد طعم و بافت مواد غذایی نقش مهمی دارد (Piotr, 2004). به ویژه در مورد ترکیبات فرار طعم‌زا این نقش بر جسته‌تر می‌شود زیرا ترکیبات معطر در فاز گازی که در حقیقت رابطه نزدیکی با فعالیت آب دارند، منتشر شده و در محدوده خاصی بنا بر نوع و ویژگی‌های فراورده اثر افزایشده یا تشدید کننده بر ایجاد طعم و عطر دارد. فاز گازی خود تابعی از میزان فعالیت آب است. به عبارت دیگر هرچه فعالیت آب کمتر باشد، فاز گازی کمتری وجود خواهد داشت (Hansen, 2008).

جدول ۲- میانگین مقادیر فعالیت آبی و ماده خشک نمونه‌های پاستیل

| فرمول | ژلاتین (%) | گوار (%) | ماده خشک (گرم/گرم) | فعالیت آبی  |
|-------|------------|----------|--------------------|-------------|
| ۱     | ۰          | ۰        | ۰/۷۳۶              | ۰/۶۲۰±۰/۰۰۱ |
| ۲     | ۰          | ۰/۵      | ۰/۷۵۷              | ۰/۶۰۲±۰/۰۰۴ |
| ۳     | ۰          | ۱        | ۰/۷۴۵              | ۰/۶۱۱±۰/۰۰۵ |
| ۴     | ۱          | ۰        | ۰/۷۲۱              | ۰/۶۲۰±۰/۰۰۱ |
| ۵     | ۱          | ۰/۵      | ۰/۷۰۶              | ۰/۶۶۲±۰/۰۰۱ |
| ۶     | ۱          | ۱        | ۰/۷۱۹              | ۰/۶۲۴±۰/۰۰۳ |
| ۷     | ۲          | ۰        | ۰/۷۲۸              | ۰/۶۲۳±۰/۰۰۲ |
| ۸     | ۲          | ۰/۵      | ۰/۷۳۷              | ۰/۶۱۹±۰/۰۰۱ |
| ۹     | ۲          | ۱        | ۰/۷۴۰              | ۰/۶۱۸±۰/۰۰۱ |

معنی‌داری متاثر از گوار بود. با افزایش غلظت گوار در فرمول‌ها، رطوبت نمونه‌ها روند افزایشی داشتند و همانطور که پیش‌تر اشاره شد صمغ گوار به دلیل ساختار هیدروفیلی خود توانایی حفظ آب بالایی داشته که منجر به افزایش رطوبت نمونه‌ها شده است. همچنین شهیدی و همکاران (۱۳۹۱)، اثرات نشاسته و گوار را بر پارامترهای بافتی، رنگی و پذیرش پاستیل هویج بررسی کردند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت گوار، میزان سختی نمونه‌های پاستیل کاهش یافتند.

### خصوصیات رنگی

مقایسه میانگین‌های مربوط به پارامترهای رنگی فرمول‌های مختلف پاستیل در جدول ۳، آورده شده‌اند.

رنگ یکی از مهمترین فاکتورها در کیفیت محصول بدست آمده از میوه‌ها نظیر مربا، مارمالاد، سس، رب و غیره است که تحت تاثیر نوع، رقم میوه و نحوه فراوری (میزان حرارت و زمان حرارت‌دهی) محصول است. فرایندهایی نظیر خشک‌کردن، تغلیظ و پختن می‌توانند بر رنگ تاثیر قابل ملاحظه‌ای داشته باشند (Guine et al. 2012).

### خصوصیات حسی

مقایسه میانگین ویژگی‌های حسی فرمول‌های مورد بررسی در جدول ۳، آورده شده است. نتایج نشان داد هیدروکلوئیدهای مورد استفاده بر ویژگی‌های حسی نظیر طعم، سفتی بافت، الاستیسیته، قابلیت جویدن، میزان چسبندگی و پذیرش کلی نمونه‌ها توسط مصرف‌کننده، اثر معنی‌دار نداشتند، فقط اثر گوار بر سفتی بافت نمونه‌های پاستیل در سطح ۵ درصد بصورت افزایشی معنی‌دار بود.

نمونه با فرمول شماره ۱، که فاقد گوار بود بیشترین سفتی و نمونه ۹ با بیشترین میزان گوار و ژلاتین، کمترین سفتی را نشان داد. نمونه ۹ با هیچ یک از نمونه‌ها به غیر از نمونه شماره ۱، اختلاف معنی‌دار نداشتند. همانطور که قبلاً توضیح داده شد، هیدروکلوئیدها با جذب آب و حفظ آن در فرمولاسیون باعث نرمی و جلوگیری از خشک شدن و سفتی بافت می‌شوند. اطلاعات بدست آمده از این تحقیق با نتایج پژوهش‌های انجام شده در گذشته، مطابقت دارد (Goldstein, 1973; Ghodke, 2007). در ارتباط با اثر گوار بر افزایش رطوبت و کاهش سختی بافت پاستیل کبوی، خزایی پول و همکاران (۱۳۹۲) به نتایج مشابه رسیدند. آنها نتیجه گرفتند میزان رطوبت نمونه‌ها به شکل

رنگ محصولات فرآوری شده می‌تواند بصورت اندیس‌های  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج یا از طریق پردازش تصویر اندازه‌گیری و بیان شود. در این سیستم‌های ارزیابی، اندیس  $L^*$  در بازه صفر (تاریکی) تا ۱۰۰ (روشنایی) و اندیس  $a^*$  در بازه (۱۲۰-) (سبزی) تا (۱۲۰+) (قرمزی) و اندیس  $b^*$  از  $-b$  (آبی) تا  $+b$  (زردی) متغیر است (Yildiz and Alpaslan, 2012).

در پژوهش حاضر اختلاف معنی‌داری در رنگ پاستیل‌های بدست آمده از توت در نتیجه استفاده از هیدروکلوئیدها و مقادیر مختلف آنها در سطح معنی‌داری ۵ درصد وجود دارد (جدول ۳). نمونه پاستیل شماره ۶، بیشترین میزان شفافیت ( $L^*=24/93$ ) را در مقایسه با سایر فرمول‌ها داشت. به علاوه نمونه مذکور دارای بیشترین مقادیر اندیس‌های  $a^*$  و  $b^*$  نسبت به سایر فرمول‌ها بود. میزان سبزی/قرمزی ( $a^*$ ) فرمول‌های پاستیل در محدوده ۱/۲۲ تا ۳/۲۶ و میزان آبی/زردی ( $b^*$ ) نمونه‌ها در محدوده ۳/۲۴ تا ۷/۷۷ بودند. بالا بودن مقادیر اندیس‌های رنگی (زردی و قرمزی و شفافیت) پاستیل‌های بدست آمده از توت، احتمالاً در ارتباط با نوع و مقادیر هیدروکلوئیدهای مصرف شده در نمونه‌های پاستیل می‌باشد.

بررسی تغییرات پارامتر رنگی  $L^*$  در سطوح مختلف ژلاتین و گوار نشان داد که به موازات افزایش ژلاتین در فرمول‌ها روند منظمی در مقادیر  $L^*$  مشهود نبود. این موضوع در موارد اندیس‌های  $a^*$  و  $b^*$  نیز صادق بود.

حضور قندهای احیاکننده و ژلاتین بسیار زیاد است که در نتیجه آن رنگدانه‌های قهوه‌ای و تیره تولید می‌شود. همچنین حرارت ناشی از خشک‌کن در حین خشک‌کردن پاستیل دلیلی دیگر بر ایجاد رنگ تیره بوده و در نهایت رنگ روشن پاستیل توت را تحت تاثیر قرار داده، از مطلوبیت آن می‌کاهد. از دیگر عوامل موثر بر رنگ پاستیل توت، وقوع واکنش‌های شیمیایی از جمله اکسیداسیون رنگدانه‌ها و تغییر ایزومری سیس و ترانس (کاروتنوئیدها) است که سطوح مختلف ژلاتین و گوار می‌تواند بر این واکنش‌ها اثر افزایشی یا کاهش‌دهنده داشته باشند (سحری، ۱۳۸۱). نتایج بدست آمده از پژوهش نشان داد که اثر متغیرها بر اندیس‌های  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  معنی‌دار بودند ( $P < 0/05$ ).

در مقادیر ثابت ژلاتین در فرمول‌های مختلف پاستیل توت، با افزایش گوار،  $L^*$  افزایش یافت. گوار با داشتن قابلیت جذب آب بالا، آب را در ساختار خود تثبیت کرده و احتمالاً به دلیل حضور آب در ساختار هیدروکلوئیدی و بافت نمونه‌ها، میزان روشنایی و درخشندگی افزایش یافت که در رنگ‌سنجی با اندیس  $L^*$  نشان داده می‌شود. جوانمرد و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که با افزایش میزان کربوکسی متیل سلولز، اندیس  $L^*$  روند افزایشی داشت. قنبر زاده و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند با افزایش کربوکسی متیل سلولز روشنایی فیلم خوراکی افزایش یافت. همچنین افزایش پکتین در فرمول‌ها موجب درگیر کردن آب بیشتر شده و در نتیجه شدت روشنایی افزایش و شفافیت محصول زیاد می‌شود (عبدالکریم و همکاران، ۱۹۹۹).

جدول ۳- مقایسه میانگین پارامترهای حسی و رنگی فرمول‌های مختلف پاستیل

| فرمول | ژلاتین (%) | گوار (%) | طعم               | سفیدی              | الاستیسیته        | قابلیت جویدن      | چسبندگی           | پذیرش کلی         | $L^*$              | $a^*$              | $b^*$             |
|-------|------------|----------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| ۱     | ۰          | ۰        | ۳/۵ <sup>a</sup>  | ۴/۳۳ <sup>a</sup>  | ۴/۱۶ <sup>a</sup> | ۴/۱۶ <sup>a</sup> | ۴/۱۶ <sup>a</sup> | ۳/۸۳ <sup>a</sup> | ۲۲/۸۲ <sup>d</sup> | ۱/۷۷ <sup>c</sup>  | ۴/۰۰ <sup>e</sup> |
| ۲     | ۰          | ۰/۵      | ۳/۶۶ <sup>a</sup> | ۴/۱۶ <sup>ab</sup> | ۳/۸۳ <sup>a</sup> | ۳/۸۳ <sup>a</sup> | ۳/۶۶ <sup>a</sup> | ۳/۶۶ <sup>a</sup> | ۲۲/۹۴ <sup>d</sup> | ۱/۲۵ <sup>ef</sup> | ۳/۲۴ <sup>g</sup> |
| ۳     | ۰          | ۱        | ۳/۱۶ <sup>a</sup> | ۳/۳۳ <sup>ab</sup> | ۳/۳۳ <sup>a</sup> | ۳/۶۶ <sup>a</sup> | ۳/۸۳ <sup>a</sup> | ۳/۱۶ <sup>a</sup> | ۲۲/۸۴ <sup>b</sup> | ۲/۹۲ <sup>b</sup>  | ۶/۶۸ <sup>b</sup> |
| ۴     | ۱          | ۰        | ۳/۵ <sup>a</sup>  | ۴/۱۶ <sup>ab</sup> | ۳/۸۳ <sup>a</sup> | ۴ <sup>a</sup>    | ۳/۵ <sup>a</sup>  | ۳/۶۶ <sup>a</sup> | ۲۲/۳۷ <sup>e</sup> | ۱/۳۳ <sup>e</sup>  | ۳/۲۵ <sup>g</sup> |
| ۵     | ۱          | ۰/۵      | ۳/۵ <sup>a</sup>  | ۳/۸۳ <sup>ab</sup> | ۴/۱۶ <sup>a</sup> | ۴/۱۶ <sup>a</sup> | ۳/۸۳ <sup>a</sup> | ۳/۶۶ <sup>a</sup> | ۲۲/۵۴ <sup>e</sup> | ۱/۷۱ <sup>c</sup>  | ۴/۲۱ <sup>d</sup> |
| ۶     | ۱          | ۱        | ۳/۱۶ <sup>a</sup> | ۳/۸۳ <sup>ab</sup> | ۳/۸۳ <sup>a</sup> | ۳/۸۳ <sup>a</sup> | ۴ <sup>a</sup>    | ۳/۱۶ <sup>a</sup> | ۲۴/۹۳ <sup>a</sup> | ۳/۲۶ <sup>a</sup>  | ۷/۷۷ <sup>a</sup> |
| ۷     | ۲          | ۰        | ۳/۵ <sup>a</sup>  | ۴/۱۶ <sup>ab</sup> | ۴ <sup>a</sup>    | ۳/۸۳ <sup>a</sup> | ۳/۵ <sup>a</sup>  | ۳/۵ <sup>a</sup>  | ۲۳/۱۹ <sup>c</sup> | ۱/۲۲ <sup>f</sup>  | ۳/۵۵ <sup>f</sup> |
| ۸     | ۲          | ۰/۵      | ۳/۶۶ <sup>a</sup> | ۴ <sup>ab</sup>    | ۴ <sup>a</sup>    | ۳/۶۶ <sup>a</sup> | ۳/۶۶ <sup>a</sup> | ۳/۵ <sup>a</sup>  | ۲۱/۸۴ <sup>f</sup> | ۱/۴۲ <sup>d</sup>  | ۳/۲۶ <sup>g</sup> |
| ۹     | ۲          | ۱        | ۳/۱۶ <sup>a</sup> | ۳/۱۶ <sup>b</sup>  | ۳/۵ <sup>a</sup>  | ۳/۸۳ <sup>a</sup> | ۴ <sup>a</sup>    | ۳/۱۶ <sup>a</sup> | ۲۲/۴۴ <sup>e</sup> | ۲/۹۴ <sup>b</sup>  | ۶/۲۰ <sup>c</sup> |

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) دارند.

در مقادیر ثابت ژلاتین، افزایش گوار باعث افزایش اندیس  $a^*$  (افزایش قرمزی) شد. این تغییرات رنگ احتمالاً ناشی از انجام واکنش‌های شیمیایی رنگ‌زا مانند مایلارد بین قندها و پروتئین‌ها و

تشکیل ملانوئیدین‌ها است. رحیمی دوگاهی و همکاران (۱۳۹۲)، به بررسی پارامترهای رنگی پاستیل بر پایه گوجه‌فرنگی پرداختند. نتایج نشان داد که پاستیل‌های گوجه‌فرنگی مستعد انجام واکنش‌های

قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی هستند. احتمالاً افزایش کربوکسی متیل سلولز در فرمول‌ها سبب تشدید واکنش قهوه‌ای شدن مایلارد شده است.

در مقادیر ثابت ژلاتین با افزایش گوار  $b^*$  زیاد شد. پارامتر  $b^*$  مربوط به زردی است که از بتا کاروتن ناشی می‌شود (ساکس و همکاران، ۲۰۰۱). گوار با داشتن اثر حفاظت‌کنندگی بر بتا کاروتن بر مقدار  $b^*$  یا زردی نمونه‌ها اثر مستقیم داشته در نتیجه میزان زردی پاستیل‌های حاوی گوار بیشتر، افزایش یافت.

انتظار مصرف‌کننده برای انتخاب مناسب‌ترین نمونه پاستیل توت از نظر رنگ آن است که شفافیت نسبی بالا ( $L^*$  زیاد)، میزان سبزی زیاد ( $a^*$  کم) و زردی بیشتر ( $b^*$  بالا) داشته باشد. نمونه شماره ۶ بیشترین شفافیت و میزان زردی را در بین نمونه‌های پاستیل داشته و نمونه شماره ۷ بیشترین میزان سبزی را به خود اختصاص داده است. از نظر رنگی نمونه شماره ۶ به‌عنوان نمونه برتر و سپس نمونه شماره ۷، معرفی می‌شود.

### ویژگی‌های بافتی

صفات بافتی مواد غذایی در پذیرش آن از سوی مصرف‌کننده اهمیت و نقش بسزایی دارد. برای برخی مصرف‌کنندگان مواد غذایی، بافت از رنگ و طعم آن اهمیت بیشتر دارد. ویژگی‌های بافتی مواد غذایی را می‌توان به ویژگی‌های مکانیکی (سختی، الاستیسیته، پیوستگی، قابلیت جویدن و چسبندگی)، ویژگی‌های هندسی (شکل و اندازه)، و سایر ویژگی‌ها (میزان رطوبت و چربی) طبقه‌بندی کرد (Szczesniak, 2002). آنالیز پروفایل بافت سالهاس به‌عنوان روشی مناسب برای اندازه‌گیری ویژگی‌های بافتی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد و پارامترهای حاصل از منحنی‌های آن ارتباط خوبی با

داده‌های حسی دارد (Lau, 2000). میانگین پارامترهای بافتی فرمول‌های مختلف پاستیل در جدول ۴ مقایسه شده‌اند.

### سختی

همانطور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود بیشترین سختی مربوط به نمونه‌های شماره ۳ و ۷ بوده و کمترین سختی مربوط به نمونه شماره ۶ است هر چند بین نمونه‌های شماره ۶، ۵، ۴، ۱، ۲، ۸ و ۹ اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد مشهود نیست. هیدروکلوئیدهای بکار رفته در فرمول‌ها با جذب و درگیر کردن آب در نمونه و ممانعت از خروج آن از ماده، مانع سفتی بافت می‌شوند. سختی مقاومت ماده غذایی نسبت به اعمال نیروی فشار بکار گرفته شده، می‌باشد (Szczesniak, 2002).

با مشاهده داده‌های مربوط به میانگین نمونه‌های پاستیل، مشخص می‌شود که روند منظمی بین سختی نمونه‌ها وجود ندارد.

### پیوستگی

نتایج جدول ۴، نشان داد که بیشترین پیوستگی مربوط به نمونه شماره ۹ است و بین نمونه ۹ و ۳ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. این نمونه‌ها با فرمول‌های ۵، ۶ و ۸ اختلاف معنی‌دار نداشتند. کمترین پیوستگی مربوط به نمونه شماره ۷ بود که با نمونه‌های ۱، ۲، ۴، ۵ و ۶ اختلاف معنی‌دار نداشتند. در صورت ثابت ماندن مقدار ژلاتین در فرمول‌ها، با افزایش میزان گوار، پیوستگی افزایش یافت. همچنین با ثابت ماندن مقدار گوار در فرمول‌ها، با افزایش ژلاتین تغییر معنی‌داری در پیوستگی بافت فرمول‌ها حاصل نشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین پارامترهای بافتی فرمول‌های مختلف پاستیل

| فرمول | ژلاتین (%) | گوار (%) | سختی (g)  | پیوستگی (%) | الاستیسیته (%) | چسبندگی (g.s) | میزان جویدن |
|-------|------------|----------|-----------|-------------|----------------|---------------|-------------|
| ۱     | ۰          | ۰        | ۱۴/۲۳ bcd | ۰/۳۰۸ d     | ۲/۰۰ e         | ۰/۰۰ a        | ۰/۰۰۸ b     |
| ۲     | ۰          | ۰/۵      | ۱۴/۲۵ bcd | ۰/۳۰۳ d     | ۲/۱۵ d         | ۰/۰۰ b        | ۰/۰۰۹ b     |
| ۳     | ۰          | ۱        | ۱۸/۶۹ a   | ۰/۳۸۳ ab    | ۲/۴۱ ab        | ۰/۰۱ bcd      | ۰/۰۱۷ a     |
| ۴     | ۱          | ۰        | ۱۵/۱۲ bc  | ۰/۳۰۳ d     | ۲/۱۸ cd        | ۰/۰۱ bc       | ۰/۰۱۰ b     |
| ۵     | ۱          | ۰/۵      | ۱۲/۷۲ cd  | ۰/۳۴۹ bcd   | ۲/۲۵ c         | ۰/۰۰ bc       | ۰/۰۱۰ b     |
| ۶     | ۱          | ۱        | ۱۱/۸۶ d   | ۰/۳۷۱ bc    | ۲/۳۷ b         | ۰/۰۱ d        | ۰/۰۱۰ b     |
| ۷     | ۲          | ۰        | ۱۸/۴۳ a   | ۰/۲۹۳ d     | ۲/۱۶ d         | ۰/۰۰ b        | ۰/۰۱۱ b     |
| ۸     | ۲          | ۰/۵      | ۱۴/۹۵ bc  | ۰/۳۲۵ cd    | ۲/۲۴ cd        | ۰/۰۱ cd       | ۰/۰۱۰ b     |
| ۹     | ۲          | ۱        | ۱۶/۰۰ b   | ۰/۴۲۷ a     | ۲/۴۹ a         | ۰/۰۱ bcd      | ۰/۰۱۷ a     |

وسعت برهمکنش‌های مولکولی اجزای فرمولاسیون بستگی دارد.

پیوستگی مقاومت درونی ساختار ماده غذایی است و میزان آن به

الاستیسیته نمونه‌ها نشد ( $P > 0.05$ ). ژلاتین یک شبکه ژلی مستحکم را ایجاد نموده که شکننده است و حالت الاستیک کمتری دارد. اما با افزایش گوار در فرمولاسیون، ژل نمونه‌ها در مقابل تنش ایجاد شده توسط پروب دستگاه آنالیز بافت کرنش کمتری ایجاد کرد. در واقع با افزایش گوار محدوده الاستیک و فنری بودن نمونه‌ها افزایش یافته است. نتایج حاضر با یافته‌های بدست آمده از پژوهش Ben-zion و Nussinovitch (۱۹۹۷)، مطابقت دارد. آنها اثر دو صمغ گالاتومانان، گوار و لوبیای لوکاست را روی ویژگی‌های بافتی ژل آگار به همراه پالپ میوه بررسی کردند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت گالاتومانان‌ها سختی و شکنندگی ژل آگار کاهش می‌یابد.

در کاربرد مخلوط هیدروکلوئیدها، عوامل غیرژلی و ویسکوزدهنده با عوامل ژل دهنده بطور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند، بدین ترتیب ویسکوزیته را افزایش یا خواص ژل‌ها بهتر شده و در نهایت الاستیسیته بیشتری ایجاد می‌شود (Williams and Phillips, 2000). Setser و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند هرچه واکنش بین اجزای پلیمر بیشتر باشد، حلالیت کاهش یافته و عموماً منتهی به تشکیل ژل با خاصیت فتر مانند و لاستیکی می‌شود.

#### چسبندگی

همانطور که در نتایج مقایسه میانگین‌ها مشاهده می‌گردد (جدول ۴)، بیشترین چسبندگی مربوط به نمونه شماره ۱، با حداقل میزان ژلاتین و گوار در نمونه‌ها بود. کمترین چسبندگی مربوط به نمونه شماره ۶ بود. این فرمول با نمونه‌های شماره ۲، ۳، ۴، ۵، ۷، ۸ و ۹ اختلاف معنی‌دار نداشت.

نتایج حاکی از آن بود که در غلظت‌های ثابت ژلاتین، افزایش گوار در فرمولاسیون، باعث کاهش چسبندگی و همچنین غلظت‌های ثابت گوار، افزایش ژلاتین، منجر به تغییر معنی‌داری در چسبندگی نمونه‌ها نشد ( $P > 0.05$ ).

Babbar و Jain (۲۰۱۱) در طی یک پژوهش، در بخشی از کار خود به رئولوژی آگار با چند هیدروکلوئید دیگر از جمله گوار پرداختند. نتایج آنها نشان داد در ژل مخلوط آگار و گوار، با افزایش درصد آگار، در حالتی که غلظت کل صمغ ثابت باقی بماند، میزان چسبندگی ژل کاهش یافت اما سفتی، استحکام و مقاومت ژل روند افزایشی داشتند. نتایج این تحقیق، مطابقت با پژوهش حاضر دارد.

#### میزان جویدن

مطابق جدول شماره ۴، نمونه‌های شماره ۳ و ۹ بیشترین میزان جویدن و بقیه نمونه‌ها کمترین میزان جویدن را داشتند. نتایج بیانگر این موضوع بودند با افزایش گوار در فرمولاسیون، در صورت ثابت

ژلاتین شبکه‌ای پیوسته و متراکم ایجاد کرده و باعث می‌شود اجزای فرمولاسیون بصورت ساختاری منسجم، کنار یکدیگر قرار گیرند. گوار نیز باعث افزایش پیوستگی نمونه‌ها شده که این نتایج اثرات سینرژیستی گوار با ژلاتین را تایید می‌کند. پدیده سینرژیستی می‌تواند در نتیجه پیوستگی مولکول‌های هیدروکلوئیدهای مختلف و ایجاد برهمکنش بین مولکولی آن‌ها باشد (Williams and Phillips, 2000). گالاتومانان‌ها (مانند گوار) می‌توانند با تعدادی از پلی‌ساکاریدها نظیر گزانتان، آگار و کاراگینان برهمکنش سینرژیستی که شامل افزایش ویسکوزیته یا افزایش قدرت تشکیل ژل است، داشته باشند (Morris, 1990; Cui, 1995). وجود اثر سینرژیستی میان دو صمغ بصورت افزایش ویسکوزیته و تغییر بافت نسبت به حالت خالص هر یک بروز می‌نماید، لذا اختلاف میان ویسکوزیته و بافت‌های پیش‌بینی شده معیار اثر سینرژیستی می‌باشد (Glicksman, 1982). برهمکنش‌های بین مولکولی ژلاتین و گوار منجر به افزایش انسجام اجزای فرمولاسیون در شبکه‌ی ژلی در کنار یکدیگر شده است. Nussinovitch (۱۹۹۱) در بررسی ویژگی‌های مکانیکی ژل‌های میوه‌ای، به اثر سینرژیستی آگار و گوار اشاره کرده‌اند. Ben-zion و Nussinovitch (۱۹۹۷) ژل‌های میوه‌ای حاصل از پوره میوه‌های مختلف از جمله کیوی را به کمک هیدروکلوئیدهای مختلف (آگار و گوار) فرموله کردند و ویژگی‌های بافتی آن را مورد بررسی قرار دادند. در بخش نتایج به اثرات سینرژیستی (هم‌افزایی) گالاتومانان‌ها بر روی ژل آگار اشاره کردند. آن‌ها این اثر هم‌افزایی را ناشی از برهمکنش‌های بین مولکولی و بهم پیوستن این هیدروکلوئیدها دانستند. همچنین Lucyszyn در سال ۲۰۰۹، در بررسی رئولوژی ژل‌های آگار و گوار به این موضوع اشاره کردند که در ژل بدست آمده از مخلوط آگار و گوار در مقایسه با آگار به تنهایی، پایداری و پیوستگی بیشتری مشاهده شده است که این به دلیل برهمکنش‌های مناسب بین آگار و گالاتومانان‌ها می‌باشد که منجر به اثرات هم‌افزایی (سینرژیستی) بین این هیدروکلوئیدها شده است. Hernandez (۱۹۹۹) به این مطلب اشاره کردند که تغییر در پیوستگی بافت در ژل‌های میوه‌ای بستگی به غلظت هیدروکلوئید مصرفی و پالپ میوه دارد. در تحقیق وی کاهش غلظت هیدروکلوئید یا افزایش پالپ میوه بر پیوستگی بافت نهایی ژل اثر منفی داشت.

#### الاستیسیته

مطابق جدول شماره ۴، بیشترین الاستیسیته مربوط به نمونه شماره ۹ بود که با نمونه‌های شماره ۳ و ۶ اختلاف معنی‌دار نداشت. نتایج حاکی از این بود که در غلظت‌های ثابت ژلاتین، افزایش گوار در فرمولاسیون، باعث افزایش الاستیسیته ( $P < 0.05$ ) و همچنین در غلظت‌های ثابت گوار، افزایش ژلاتین، منجر به تغییر معنی‌داری در

ماندن غلظت ژلاتین، میزان جویدن افزایش یافت.

Boland و همکاران (۲۰۰۶) اظهار داشتند ژل‌های منسجم‌تر به مدت طولانی‌تری جویده می‌شوند. جویدن باعث شکست ساختار غذا و افزایش سطح نواحی در دسترس برای پخش مواد معطر می‌گردد که این مسئله افزایش رهاسازی طعم را به دنبال دارد. در بخش مربوط به پیوستگی بافت، نتایج نشان داد که با افزایش گوار پیوستگی و انسجام نمونه‌ها افزایش یافته است. بنابراین می‌توان گفت که این افزایش پیوستگی ناشی از صمغ گوار در فرمولاسیون، منجر به افزایش میزان جویدن نمونه‌ها گردیده است.

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش، پاستیل توت سفید با استفاده از غلظت‌های مختلف ژلاتین و گوار تهیه شد. رنگ، ویژگی‌های بافتی و حسی فرآورده‌های نهایی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تاثیر هیدروکلوئیدها بر برخی از ویژگی‌های حسی پاستیل توت نظیر طعم، سفتی بافت، الاستیسیته، قابلیت جویدن، میزان چسبندگی و پذیرش کلی نمونه‌ها توسط مصرف‌کننده معنی‌دار نبودند. آنالیز داده‌های اثر هیدروکلوئیدها بر اندیس‌های رنگی معنی‌دار بودند. نمونه شماره ۶ (۱٪ گوار و ۱٪ ژلاتین) با داشتن بیشترین میزان شفافیت و زردی، فرمول بهینه از نظر رنگ تعیین شد.

### منابع

- Abd Karim, A., Sulebele, G.A., Azhar, M.E., Ping, C.Y. 1999. Effect of Carrageenan on yield and properties of Tofu. *Food Chemistry*. 66: 159-165.
- Akbulut, M., C., Pekic, C. and Oklar, H. 2006. Determination of some chemical properties and mineral contents of different mulberry varieties, Ulusal Uzumsu Sempozyumu, 14-16 Eylul, Tokat: 176-180 (in Turkish).
- Al-Juhaimi, F. Y. 2014. Physicochemical and Sensory Characteristics of Arabic Gum-Coated Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) Fruits during Storage. *Journal of Food Processing and Preservation*. 38 (3): 971-979.
- Ben-zion, O. and Nussinovitch. 1997. A prediction of the compressive deformabilities of multilayered gels and texturized fruit, glued together by three different adhesion techniques. *Food Hydrocolloids*. 11(3): 253-260.
- Boland A.B., Delahunty C.M., Van Ruth S.M. 2006. Influence of the texture of gelatin gels and pectin gels on strawberry flavor release and perception. *Food Chemistry*, 96:452-460.
- Carr, J., Baloga, C., Guinard, X., Lawter, L., Marty, C. and Squire, C. 1996. The effect of gelling agent type and concentration on flavor release in model systems. In: Flavor – food interactions (McGorin, R. J. and Leland, J. V eds.), American Oil Chemical Society. Washington, DC. pp: 98-108.
- Cayot, N., Taisant, C. and Voilley, A. 1998. Release and perception of isoamyl acetate from a starch-based food matrix. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 3201-3206.
- Cui, W., Eskin, N. A. M., Biliaderis, C. G. and Mazzad, G. 1995. Synergistic interactions between yellow mustard polysaccharides and galactomannans. *Carbohydrate Polymers*, 21: 123-127.
- Doublier, J. L. and Cuvelier, G. 1996. Gums and Hydrocolloids: functional aspects. In: Carbohydrates in food. (Eliasson, A.-C. ed.), Basel, Marcel Dekker. New York, pp: 283-318.
- Ercisli, S. 2004. A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evaluation*, 51: 419-435.
- Ganbarzadeh, B., Almasih, H., Entezami, A. 2010. Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose film. *Innovative food science and emerging technologies*. 11: 679-702.
- Ghiafeh Davoodi, M., Nikkhah, Sh., Seyed Yaghobi, A. 2009. Effect of using of physical and chemical pre treatments on quality and sensory properties of dried white mulberry. *Journal of Food Science and Technology*. 6 (3): 55-60.
- Ghodke, S. K. and Laxmi, A. 2007. Influence of Additives on Rheological Characteristics of Whole-wheat Dough and

بررسی حاصل از ارزیابی پروفایل بافتی نشان داد، تغییر در مقادیر هیدروکلوئیدهای مصرفی در فرمولاسیون، روند منظمی بر سختی نمونه‌ها نداشت. افزایش گوار باعث افزایش میزان پیوستگی، الاستیسیته و قابلیت جویدن و کاهش میزان چسبندگی در نمونه‌ها شد. از آنجا که در بین فرمول‌های بدست آمده از توت (پاستیل)، نمونه حاوی ۱٪ گوار و ۱٪ ژلاتین کمترین میزان سختی، چسبندگی به دندان و قابلیت جویدن را داشت، به‌عنوان نمونه برتر از نظر خصوصیات بافتی معرفی شد. تولید پاستیل میوه‌ای در مقیاس تجاری علاوه بر جلوگیری از ضایعات میوه، به دلیل طبیعی بودن مواد اولیه آن و ارزش غذایی بالا به ویژه از نظر میزان مواد معدنی، ویتامین‌ها و فیبر، زمان ماندگاری بالا، طعم مطلوب و میزان انرژی زایی می‌تواند مورد توجه قشر وسیعی از جامعه به ویژه کودکان، زنان باردار و ورزشکاران قرار بگیرد.

### تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی و معاونت پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد برای تصویب و اجرای طرح که به صورت مشترک پذیرفته شده بود نهایت تشکر و سپاس دارد.

- Quality of Chapatti (Indian Unleavened Flat Bread). Part I. Hydrocolloids. *Food Hydrocol*, 21: 110-117.
- Glicksman, M. 1982. *Food Hydrocolloids*. Vol.3, CRC press. Florida.
- Goldstein, A.M., Alter, E.N., Seaman, J.K. 1973. Guar gum. In: whistler RL, editor, Industrial gums, 2nd edition. New York: *Academic Press*: 303 – 321.
- Guichard, E., Issanchou, S., Descourvieres, A and Etievant, P. 1991. Pectin concentration, molecular weight and degree of esterification. *Journal of Food Science*, 56 (6): 1621–1627.
- Guinard, J. X and Marty, C. 1995. Time-intensity measurement of flavor release from a model gel system: effect of gelling agent type and concentration. *Journal of Food Science*, 60 (4): 727–730.
- Guine, R. P. F., Joao Barroca, M. 2012. Effect of drying treatments on texture and color of vegetables (pumpkin and green pepper). *Food and Bioproducts Processing*, 90 (1): 58-63.
- Gundogdu, M., Muradoglu, F., Gazioglu Sensoy, R. I., Yilmaz, H. 2011. Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus Alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC. *Scientia Horticulturae*, 132: 37- 41.
- Hansson, A., Andersson, J and Leufven, A. 2001. The effect of sugars and pectin on flavor release from a soft drink related model system. *Food Chemistry*, 72: 363-368.
- Hansen.M. Blennow, A. & Pedersen, S. 2008. Gel texture and chain structure of amylomaltase-modified starches compared to gelatin. *Food Hydrocolloids*, 22: 1551–1566.
- Hernandez M.J., Duran L., Costell E. 1999. Influence of composition on mechanical properties of strawberry gels. Compression test and texture profile analysis. *Food Science and Technology International*, 5: 79-87.
- Jain, R and S. B. Babbar. 2011. Evaluation of blends of alternative gelling agents with agar and development xanthagar, a gelling mix, suitable for plant tissue culture media. *Asian Journal of Biotechnology*, 3(2): 153- 164.
- Javanmard, M., Ling Chin, N., Mirhosseini, S. H., Endan, J. 2012. Characteristics of gelling agent substituted fruit jam: studies on the textural, optical, physicochemical and sensory properties. *International Journal of Food Science and Technology*, pages: 1-11.
- Karakaya S., El, S. N., TAS, A. A. 2001. Antioxidant activity of some foods containing phenolic compounds. *International Journal of Food Sciences & Nutrition*, 52 (6): 501-8.
- Khalilian, S., Shahidi, F., Elahi, E., Mehebbi, M., Sarmad, M., Roshan Nejad, M. 2011. The effect of different concentrations of pectin and xanthan gum on sensory properties and water activity of the fruit pastille based on cantaloupe puree. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 7 (3): 200-209.
- Khazaiy Pool, E., Shahidi, F., Mortazavi, A., Mohebbi, M. 2013. Kiwi pastille formulation and effect of different concentrations of agar and guar on moisture content, textural and sensory properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 10 (1): 27-37.
- Kealy T. 2006. Application of liquid and solid rheological technologies to the textural characterization of semi-solid food. *Food Research International*, 39: 265-276.
- Korus, J., Witczak, M., Ziobro, R., Juszczak, L. 2009. The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread. *Food Hydrocolloids*, 23: 988–995.
- Koyuncu, F. 2004. Organic acid composition of native black mulberry fruit. *Chemistry of Natural Compounds*, 40 (4): 367-369.
- Lau, M., Tang, J and Paulson, A. T. 2000. Texture profile and turbidity of gellan / gelatin mixed gels. *Journal Food Research International*, 33: 665-671.
- Lin, J. Y and Tang, C. Y. 2007. Determination of total phenolics and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry*, 101 (1): 140 – 147.
- Lin, J. Y and Tang, C. Y. 2008. Total phenolic contents in selected fruit and vegetable juices exhibit a positive correlation with interferon- $\gamma$ , interleukin-5, and interleukin-2 secretions using primary mouse splenocytes. *Journal of Food Composition Analysis*, 21: 45–53.
- Lucszyn, N., Quoirin, M., Koehler, H.S., Reicher and Sierakowski. M. R. 2009. Agar/galactomannan blends for strawberry (*Fragaria x ananassa* Duchesne cv. Pelican micropropagation. *Scientia Horticulturae*, 107: 358-364.
- Machii, H., Koyama, A., Yamanouchi, H. 2000. FAO Electronic Conference: Mulberry for animal production. Available from <http://www.fao.org/livestock/agap/frg/mulberry>.
- Maghami KIA, H., Shahidi, F., Mohamadi Sani., A. 2013. Evaluation of the effect of grape concentrate instead invert syrup in soymilk pastille formulation a nutritional values and sensory properties. 1st International e-Conference on *Novel Food Processing* (IECFP): 2-26.
- Morris, E. R. 1990. In food gels •Edited by Harris, P., and Elsevier applied science London, UK, 8: 291.
- Nakamura, Y., Watanabe, S., Miyake, N., Kohno, H and Osawa, T. 2003. Dihydrochalcones: evaluation as novel radical scavenging antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3309–3312.
- Nussinovitch, I. J. Kopelman and S. Mizrahi .1991. Mechanical properties of composite fruit products based on hydrocolloid gel, fruit pulp and sugar. *Lebensmittel- Wissenschaft und-Technologie*, 24 (3): 214-217.
- Ozgen, M., Kaya, C. 2009. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Scientific Horticulture*, 119: 275-279.

- Parvaneh, V. 1991. Food quality control and chemistry testing. Tehran University Press.
- Pawlosky, R. J., Ward, G. and Salem, N. 1996. Essential fatty acid uptake and metabolism in the developing rodent brain. *Lipids*, 31: 103-107.
- Piotr P. 2004. Water as the determinant of food engineering properties. A review. *Journal of Food Engineering*, 61: 483- 495.
- Primo-Martí'n, C., de Beukelaer, H., Hamer, R.J., and Van Vliet, T. 2008. Fracture behavior of bread crust: Effect of ingredient modification. *Journal of Cereal Science*, 48: 604-612.
- Rahimi Dogahi, P., Shahidi, F., Boloriyan, Sh., Mohammadi Sani, A. 2013. Evaluation on color Parameter of pastille based on tomato. 21th *National Congress of Food Science and Technology*.
- Rezaee, R., Shahidi, F., Elahi, M., Mohebbi, M., Nassiri Mahallati, M. 2012. Texture Profile Analysis of Plum Pastille by Sensory and Instrumental Methods and Optimization of its Formulation. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 8 (1): 30-39.
- Sacks, E. J & Francis, D. M. 2001. Genetic and environmental variation for tomato flesh color in a population of modern breeding lines. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126 (2): 221-226.
- Sahari, M. A. 2002. *Chemical color compounds in food*. Andishmand Press.
- Sengul, S., Ertugay, M. F and Sengul, M. 2005. Rheological, physical and chemical characteristics of mulberry pekmez. *Food Control*, 16: 73-76.
- Setser, C.S. and Brannan, G.D. 2003. Carbohydrates/Sensory properties. Elsevier Science Ltd.
- Shahidi, F., Rezaee, R., Mohebbi, M. 2010. Fruit pastille based on pumpkin, new product production from pumpkin. *Journal of Food Science and Technology*, special issue 19th *National Congress of Food Science and Technology*.
- Shahidi, F., Khalilian, S., Mohebbi, M., Khazaei, E., Maghami Kia, H. 2012. Evaluation of the effects of starch and guar on textural parameters, color parameters and acceptance of carrot pastille. *Journal of food processing and preservation*, 4 (2): 15-28.
- Shahrestani, N. 1998. Iran berry fruits. Gilan University Press. 131-149.
- Sun, D. 2008. Computer vision technology for food quality evaluation. Academic Press, New York.
- Szczesniak, A. S. 2002. Texture is a sensory property, *Journal Food Quality and Preference*, 13: 215-225.
- Tsami, E., Marinous, DM. 1990. Water sorption isotherms of raisins, currant, figs, prunes and apricots. *Journal of Food science*, 55: 1594- 1597.
- Williams, P. A and Phillips, G. O. 2000. Hand of hydrocolloid. Introduction to food hydrocolloids. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- Yildiz, O and Alpaslan, M. 2012. Rose Hip Marmalade, *Food Technology Biotechnology*, 50 (1): 98-106.
- Zadernowski, R., Naczki, M and Nesterowiz, J. 2005. Phenolic acid profiles in some small berries. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 2118-2124.
- Zhang, W., Han, F and Duan, C. 2008. HPLC-DAD-ESI-MS/MS analysis and antioxidant activities of non anthocyanin phenolics in mulberry (*Morus Alba L.*). *Journal of Food Science*, 3 (51): 512-518.

## Investigation on the effects of different amounts of gellatin and guar on texture, organoleptic and color properties of white mulberry pastille

Sh. Basiri<sup>1\*</sup>, F. Shahidi<sup>2</sup>

Received: 2014.12.14

Accepted: 2015.06.04

**Introduction:** *Morus Alba*, known as white mulberry, is a short-lived, fast-growing and small to medium sized mulberry tree, which grows to 10–20 meters tall. The species is native to northern China, and is widely cultivated and naturalized elsewhere. The fruit is 1–2.5 cm long in the species in the wild, it is deep purple, but in many cultivated plants it varies from white to pink, being sweet and bland. The fruits are also eaten, often dried or made into wine or vinegar. In traditional Chinese medicine, the fruit is used to treat prematurely grey hair, to tonify the blood, and treat constipation and diabetes. White mulberry is a fruit with high nutritional quality. The shelf life of mulberry is short due to its high moisture content. Dried mulberry and its molasses are popular products from mulberry fruit. Hydrocolloids are used in fruit snacks formulations to create novel texture, increase stability for their water-holding capacity, improve texture and have an impact on flavor release and other structural and sensory properties in the respective products. Hydrocolloids are also widely used in the food industry as thickeners, stabilizers and gelling agents in various products including ice cream, sauces, jellies and pastille products. Guar gum is kind of long-chain galacto-mannan with high molecular weight, obtained from endosperm of guar plant. This type of synergistic behavior among polysaccharides is commercially valuable, because it creates a novel texture and a more desirable structure. The aim of this research is to produce mulberry pastille as a novel and value added product with long shelf life. Beside it can be introduced as a healthy snack replacing sugar.

**Materials and methods:** The materials include mulberry puree, hydrocolloids (Gelatin and guar) and citric acid. Berries were collected from the gardens around Mashhad (Iran). Guar was purchased from Sigma Chemical Company, citric acid was purchased from Merk Chemical Company, Germany.

Gelatin (0, 1, and 2 %) and Guar (0, 0.5, and 1 %) were used for pastille formulations. To produce fruit pastille based on mulberry puree, the prepared puree was mixed into hydrocolloids. After measure pH and moderating to PH = 4.3 by adding acid citric in 40 % concentration and controlling the Brix degree to constant Brix of 45, the mixture was prepared. Then the prepared mixture was poured into a network framework of steel origin in the cavities with 1.2×1/2 and the molds were hold in the refrigerator for 2 hours with 4°C to fasten the gel. The obtained gel was taken out of the mold cavities and placed in a glass plate. The samples were then dried at 70° C in a hot air drier with airflow rate of 1.5 m/s for 6 hours. The samples were evicted every 30 minutes. Parameters such as color, sensory and textural characteristics of samples were investigated. Statistical design was 2 factors factorial with three replicates adopted completely randomized design.

**Results and Discussion:** The results of texture evaluation showed that increasing guar gum improves the cohesion, elasticity and chewiness of the samples, while their adhesion were decreases.

**Conclusion:** Mulberry pastille including 1% Guar and 1% Gelatin having the lowest amount of firmness, adhesion, chewiness and suitable color characteristics, was determined as the best formulation among the other investigated samples.

**Key words:** Hydrocolloid, Mulberry Pastille, Organoleptic Characteristics, Texture Properties.

1. Assistant Professor, Agricultural Engineering Research Department , Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Mashhad, Iran.

2. Professor, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.

(\*Corresponding Author Email: shbasiri35@yahoo.com)

## بهینه‌سازی شرایط تولید پپتیدهای ضداسکایس از هیدرولیز کنسائره پروتئینی دانه کدو توسط تریپسین به روش سطح پاسخ

الهام نورمحمدی<sup>۱</sup>، علیرضا صادقی ماهونک<sup>۲\*</sup>، محمد قربانی<sup>۲</sup>، مهران اعلمی<sup>۲</sup>، معصومه صادقی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۰۹

### چکیده

در این پژوهش بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز پروتئین دانه کدو (*Cucurbita pepo*) به منظور دستیابی به حداکثر خصوصیات مهارکنندگی رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون فرو با استفاده از روش سطح پاسخ و با استفاده از طرح مرکب مرکزی مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور غلظت آنزیم تریپسین ۱-۲ درصد، دمای ۳۵-۴۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۲-۵ ساعت به عنوان سطوح متغیرهای مستقل انتخاب شدند. نتایج نشان داد که شرایط بهینه برای یافتن به حداکثر خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون آهن به ترتیب دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۵ ساعت و غلظت آنزیم ۱/۱۰٪ و دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲/۰۵ ساعت و غلظت آنزیم ۲٪ و با قابلیت ضداسکایسی و شلاته‌کنندگی برابر با ۷۶/۲۸٪ و ۴۹/۶۱٪ بود که مشابهت زیادی با نتایج پیشنهاد شده توسط نرم‌افزار (۷۵/۸۹٪ و ۵۰/۸۴٪) داشت. مقدار  $R^2$ ، ۹۱۸۴/۰ و ۹۷۶۱/۰ و  $R^2$  تعدیل شده ۱۳۳۳/۰ و ۱۸۲۷/۰ به ترتیب برای خاصیت مهار رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون آهن توسط نرم‌افزار تخمین زده شد. بر طبق نتایج بدست آمده پروتئین هیدرولیز شده دانه کدو از قابلیت ضداسکایسی و شلاته‌کنندگی مناسبی برخوردار بود.

**واژه‌های کلیدی:** دانه کدو، هیدرولیز آنزیمی، تریپسین، روش سطح پاسخ

### مقدمه

پروتئین‌ها یک منبع غذایی مهم برای تغذیه انسان به‌شمار می‌روند. این ترکیبات تأمین‌کننده نیتروژن، اسیدهای آمینه و انرژی لازم برای عملکرد طبیعی ارگان‌های بدن می‌باشند. هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها یکی از راه‌های مؤثر برای بهبود ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و کاربردی این ترکیبات است. از هیدرولیز آنزیمی به‌منظور تولید بخش‌های پروتئینی و پپتیدهای زیست فعال استفاده می‌شود. این ترکیبات زنجیره‌های پپتیدی با اندازه ۱۵-۲ اسیدآمینه هستند که قابل استحصال از هیدرولیز منابع حیوانی مختلف مانند کازئین، آب پنیر، گوشت و... و منابع گیاهی مانند گلوتن گندم، سویا، اسفناج، لوبیا و... می‌باشند. پپتیدهای حاصل از هیدرولیز پروتئینی دارای ویژگی‌های بیولوژیک متنوعی مانند خواص ضد فشار خون، ضداسکایس،

ضد کلسترول، ضد باکتری، ضد سرطان، ضد ترومبوز و... می‌باشند که این ویژگی‌ها منجر به مورد توجه واقع شدن پروتئین‌ها به‌ویژه انواع گیاهی در بخش غذا و دارو به‌منظور تولید و تخلیص پپتیدهای زیست فعال شده است. یکی از خواص منحصر به فرد پپتیدهای زیست فعال حاصل از هیدرولیز پروتئین‌ها خواص ضداسکایس این ترکیبات است (Torruco-Ucoet al., 2009). پراکسیداسیون چربی‌ها یکی از دلایل اصلی فساد مواد غذایی در طول فرایند و نگهداری است. در این مورد افزودن ضداسکایس‌ها یک روش مؤثر برای افزایش طول عمر مواد غذایی حاوی چربی به‌شمار می‌رود. در حال حاضر رغبت مصرف‌کنندگان به ضداسکایس‌های مصنوعی به دلیل تصویری که در مورد اثر سرطان‌زایی این ترکیبات وجود دارد کاهش یافته است (Jayaprakasha et al., 2001). بنابراین در سال‌های اخیر تلاش‌های گسترده‌ای برای یافتن ضداسکایس‌های طبیعی به‌ویژه ضداسکایس‌هایی با منشأ گیاهی به دلیل وزن ملکولی پایین، جذب سریع و فعالیت بالای این ترکیبات انجام شده است. پپتیدهای زیست فعال دارای ساختار ساده‌تر بوده، پایداری بیشتری را در شرایط مختلف نشان داده و منجر به واکنش‌های خطرناک مربوط به سیستم ایمنی بدن نمی‌گردند. پپتیدهای زیست فعال با ۱۰-۲ اسید آمینه از

۱ و ۲- به ترتیب دانش‌آموخته دکترا و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۳- استادیار، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان.

(\*) نویسنده مسئول: (Email: sadeghiaz@yahoo.com)

DOI: 10.22067/food.v1395i0.45423

## مواد و روش‌ها

### مواد

کنجاله دانه کدو *Cucurbitapepo con. Pepo var. Styriaca*) از شرکت سویا بین گرگان خریداری شد. آنزیم تریپسین و رادیکال DPPH<sup>۱</sup> از شرکت سیگما و فروزین، کلرید آهن، سود، اسید کلریدریک و اتانول از شرکت مرک تهیه شدند و تمام مواد مورد استفاده از درجه آزمایشگاهی برخوردار بودند.

### آماده‌سازی کنجاله کدو

پس از حذف مواد خارجی، کنجاله توسط دستگاه آسیاب (Perten, 3100 ساخت آلمان) به آرد تبدیل شد. آرد حاصل به مدت ۱۶ ساعت با حلال هگزان به نسبت ۱:۳ چربی‌گیری و در دمای اتاق خشک، و تا مرحله استخراج پروتئین در یخچال نگهداری شد.

### تهیه کنسانتره پروتئین دانه کدو

کنجاله دانه کدو چربی‌گیری شده به نسبت ۱:۱۰ در آب پراکنده شد. سپس pH محلول توسط محلول سود ۱ نرمال به ۱۰ رسانده شده و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق مخلوط شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در سانتریفوژ یخچال‌دار (مدل Combi514R، کره جنوبی) قرار گرفت. به‌منظور رسوب پروتئین‌های دانه کدو سوپرناتانت حاصل توسط اسیدکلریدریک ۱ نرمال به pH ۵ رسانده شد و تحت شرایط مشابه سانتریفوژ شد. رسوب بدست آمده (کنسانتره پروتئین) برای هیدرولیز مورد استفاده قرار گرفت (Zivanovic et al., 2011).

### هیدرولیز کنسانتره پروتئین دانه کدو

به‌منظور هیدرولیز کنسانتره پروتئین دانه کدو، کنسانتره به نسبت ۵٪ (وزنی/حجمی) در بافر فسفات (pH=۸) پراکنده شد. سپس آنزیم در غلظت ۱٪ تا ۲٪ افزوده شد و هیدرولیز در محدوده دمایی و زمانی به ترتیب ۳۵-۴۵ درجه سانتی‌گراد و ۵-۲ ساعت در انکوباتور شیک‌ر (مدل 8480-VS، کره جنوبی) با دور ۲۰۰ دور بر دقیقه انجام شد. در انتها واکنش آنزیمی در ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه متوقف شد و برای حذف ترکیبات اضافه سانتریفوژ کردن در ۵۰۰۰ g به مدت ۳۰ دقیقه انجام گرفت (Villanueva et al., 1999).

### اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

برای این منظور ۱۰۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ی پروتئین هیدرولیز شده با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول DPPH (۰/۱ میلی مولار) تهیه شده در اتانول ۹۶٪ مخلوط‌شد، مخلوط به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق و

هیدرولیز آنزیمی منابع غذایی مختلف توسط انواع پروتئاز تولید شده‌اند. این پپتیدها دارای ویژگی‌هایی مانند ممانعت از پراکسیداسیون و حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند.

کدو (*Cucurbita pepo*) یکی از گیاهانی است که به شکل گسترده‌ای در سرتاسر جهان کشت شده و به‌عنوان غذا و دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد. آرد چربی‌گیری شده دانه کدو حاوی ۵۵/۴٪ پروتئین، ۲۸/۱٪ فیبر و ۷/۲۳٪ خاکستر بوده، اسیدهای چرب اصلی آن لینولئیک (۴۳/۱٪) و اولئیک اسید (۳۷/۸٪) می‌باشند و هر ۱۰۰ گرم از این ماده ۲/۸۳ مگاژول انرژی تولید می‌کند (Lazos, 1986).

دانه کدو منبعی مغذی از پروتئین و فیتوسترول به‌شمار می‌رود و حاوی میزان قابل توجهی از مواد معدنی مانند روی، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن، مس، فسفر و بتاکاروتن است. ایزوله پروتئین کدو غنی از ضداسکایندها بوده و در کاهش اثرات مخرب مربوط به سوء تغذیه مؤثر است (Mohamed et al., 2009). مهرگان و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی تأثیر آنزیم آلکالاز بر خواص ضداسکایس پروتئین هیدرولیز شده ماهی کاراس (*Carassius carassius*)، گزارش دادند که بیشترین فعالیت مهار رادیکال DPPH در شرایطی منطبق با دمای ۴۸/۱۱ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۵۱/۲۷ دقیقه و فعالیت آنزیمی ۶۴/۴۳ واحد آنسون مشاهده شد. هیدرولیز پروتئین ماهی گیش خط زرد (*Selaroides leptolepis*) توسط آلکالاز و فلیورزایم نشان داد که با افزایش زمان هیدرولیز، قدرت شلاته‌کنندگی در نمونه‌های تولید شده توسط هر دو آنزیم افزایش یافت، در حالی که در درجه هیدرولیز یکسان، هیدرولیز شده‌های تولیدی توسط فلیورزایم قدرت شلاته‌کنندگی بیشتری نسبت به نمونه‌های هیدرولیز شده توسط آلکالاز داشتند (Klompong et al., 2007). وجود قدرت احیاکنندگی، مهار رادیکال سوپراکسید، مهار رادیکال DPPH و قدرت شلاته‌کنندگی برابر با ۰/۶۹، ۰/۶۷، ۷۹/۷۱٪ و ۶۵/۱۵٪ به ترتیب در غلظت‌های ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۰/۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۱/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در پروتئین هیدرولیز شده یونجه توسط آلکالاز گزارش شد (Xie et al., 2008).

یکی از موارد کاربرد دانه کدو تولید روغن از این منبع می‌باشد. کنجاله حاصل از روغن‌کشی دانه کدو حاوی درصد بالایی پروتئین است که در حال حاضر فرایند خاصی بر روی آن انجام نشده و با قیمت بسیار ارزان به مصرف خوراک دام می‌رسد. با توجه به پتانسیل بالای این ماده در تولید پپتیدهای زیست‌فعال، در این پژوهش بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز آنزیمی کنجاله دانه کدو به‌منظور تولید پپتیدهای زیست‌فعال با بیشترین اثر مهارکنندگی رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون آهن توسط آنزیم تریپسین مورد مطالعه قرار گرفته است.

اثرات خطی<sup>۴</sup>،  $b_{22}$ ،  $b_{11}$  و  $b_{33}$  اثرات درجه دوم<sup>۵</sup> و  $b_{12}$ ،  $b_{13}$  و  $b_{23}$  اثرات متقابل<sup>۶</sup> می‌باشند. جدول آنالیز واریانس (ANOVA)، ضرایب رگرسیونی، رسم نمودارها و بهینه‌سازی توسط نرم‌افزار Design Expert انجام گرفت و معنی‌داری آزمون‌ها از طریق محاسبه F-Value در سطح احتمال معنی‌داری ۰/۰۵ بررسی شد.

جدول ۱- سطوح متغیرهای مستقل مورد استفاده برای بهینه‌سازی فعالیت ضد اکسایش پروتئین دانه کدو

| متغیرهای مستقل                  | حدود تغییرات |      |    |
|---------------------------------|--------------|------|----|
|                                 | -۱           | ۰    | +۱ |
| غلظت آنزیم (%)                  | ۱٪           | ۱/۵٪ | ۲٪ |
| دمای هیدرولیز (درجه سانتی‌گراد) | ۳۵           | ۴۰   | ۴۵ |
| زمان هیدرولیز (ساعت)            | ۲            | ۳/۵  | ۵  |

## نتایج و بحث

ویژگی‌های کنجاله کدو در جدول ۳ آمده است. اثر سه فاکتور غلظت آنزیم، دما و زمان هیدرولیز بر خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون فرو در جدول ۴ ارائه شده است.

معادله‌های خطی ۵ و ۶ با در نظر گرفتن ضرایب رگرسیونی به ترتیب برای خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون فرو و با توجه به معنی‌داری ضرایب پیشنهاد شد:

$$(۵) \quad (\text{آنزیم} \times ۲۰/۸۶ - ۱۰۹/۳۶۲۵ = \text{فعالیت مهار رادیکال DPPH} \\ (\text{دما} \times ۱/۱۹) - (\text{زمان} \times ۶/۲۴) +$$

$$(۶) \quad (\text{آنزیم} \times ۳۹/۰۵ - ۵۴۴/۴۷ = \text{فعالیت شلاته‌کننده یون فرو} \\ + (\text{دما} \times ۰/۳۱) + (\text{زمان} \times ۱/۷۹) + (\text{آنزیم} \times \text{آنزیم} \times \\ (۱۰/۹۲) + (\text{دما} \times ۲۴/۲۵) - (\text{زمان} \times ۱۳/۹۴) -$$

مقدار  $R^2$  برای معادله اول ۰/۹۱۸۴ و برای معادله دوم ۰/۹۷۶۱ و میزان  $R^2$  تعدیل شده معادله اول و دوم به ترتیب ۰/۹۰۳۱ و ۰/۹۵۴۷ بود که نشان‌دهنده مناسب بودن توزیع داده‌ها است. به علاوه فاکتور عدم برازش که معیاری برای بررسی مناسب بودن مدل ارائه شده می‌باشد، به ترتیب میزان ۰/۱۳۳۳ و ۰/۱۸۲۷ را در معادله اول و دوم به خود اختصاص داد. بالاتر بودن میزان عدم برازش از سطح احتمال معنی‌داری (۰/۰۵) یا به عبارت دیگر بی‌معنی بودن این فاکتور نشان‌دهنده مناسب بودن مدل پیشنهاد شده و برازش مدل بر اساس پاسخ‌های در نظر گرفته شده می‌باشد. برازش مناسب نشان‌دهنده این

در تاریکی نگهداشته شد. در نهایت جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد (Bougatef et al., 2009).

در نمونه کنترل به جای محلول پروتئین هیدرولیز شده از ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول استفاده شد. فعالیت مهارکنندگی فعالیت رادیکال از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$(۱) \quad ۱۰۰ \times (\text{جذب شاهد} / (\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد})) = \text{درصد فعالیت}$$

مهارکنندگی رادیکال

## بررسی خاصیت شلاته‌کنندگی یون فرو

به این منظور ۴/۷ میلی‌لیتر محلول پروتئین هیدرولیز شده با ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول کلرید آهن II (۲ میلی‌مولار) و ۰/۲ میلی‌لیتر فروزین<sup>۱</sup> (۵ میلی‌مولار) مخلوط گردید و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. در انتها جذب در طول موج ۵۶۲ نانومتر قرائت شد. در نمونه‌ی کنترل بجای نمونه‌ی پروتئین هیدرولیز شده از آب مقطر استفاده شد. فعالیت شلاته‌کنندگی از رابطه‌ی زیر بدست آمد (Almeida et al., 1994).

$$(۲) \quad ۱۰۰ \times (\text{جذب کنترل} / (\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل})) = \text{درصد شلاته‌کنندگی}$$

## بهینه‌سازی فرایند

به منظور بهینه‌سازی فرایند از نظر خواص ضد اکسایش از نرم‌افزار Design Expert و روش سطح پاسخ<sup>۲</sup> (RSM) با طرح مرکب مرکزی (CCD)<sup>۳</sup> برای سه متغیر مستقل غلظت آنزیم ( $x_1$ )، دما ( $x_2$ ) و زمان هیدرولیز ( $x_3$ ) در سه سطح (+۱، ۰، -۱) استفاده شد. حدود هر کدام از متغیرهای مستقل با توجه به نتایج آزمون‌های آزمایشی بدست آمد. پاسخ‌های مورد بررسی خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و خاصیت شلاته‌کنندگی یون فرو بودند. ۲۰ تیمار به صورت تصادفی با شش تکرار در نقطه مرکزی توسط نرم‌افزار انتخاب شدند. سطوح مختلف متغیرهای مستقل در جدول ۱ و تیمارهای مربوطه در جدول ۲ ارائه شده است. مدل رگرسیونی ۱ و ۲ به منظور پیش‌بینی پاسخ‌های اول و دوم (مهار رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون فرو) بصورت معادلات ذیل پیشنهاد شد:

$$(۳) \quad Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3$$

$$(۴) \quad Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + b_{23}x_2x_3$$

در معادله فوق،  $Y$  پاسخ یا متغیر وابسته (فعالیت مهارکنندگی رادیکال یا شلاته‌کنندگی یون فرو در مقدار واقعی)،  $b_0$  مقدار ثابت و  $b_1$ ،  $b_2$ ،  $b_3$

است که مدل ارائه شده توانائی توضیح در تغییرات داده‌ها را دارد (مهرگان و همکاران، ۱۳۹۲).

جدول ۲- تیمارهای تصادفی و فعالیت ضداکسایش پروتئین هیدرولیز شده دانه کدو

| تیمار | غلظت آنزیم (%) | دمای هیدرولیز (C) | زمان هیدرولیز (h) | فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (%) | فعالیت شلاته‌کنندگی یون فرو (%) |
|-------|----------------|-------------------|-------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| ۱     | ۱              | ۳۵                | ۵                 | ۷۸                                 | ۳۱/۴۴                           |
| ۲     | ۲              | ۳۵                | ۲                 | ۳۸/۰۳                              | ۳۸/۶۳                           |
| ۳     | ۲              | ۳۵                | ۵                 | ۶۱/۲۴                              | ۴۰/۶۷                           |
| ۴     | ۱/۵            | ۳۵                | ۳/۵               | ۶۲/۴۷                              | ۳۱/۶۹                           |
| ۵     | ۱              | ۳۵                | ۲                 | ۵۶/۷۷                              | ۳۷/۸۸                           |
| ۶     | ۱/۵            | ۴۰                | ۳/۵               | ۴۸/۹۱                              | ۲۷/۶۷                           |
| ۷     | ۱/۵            | ۴۰                | ۳/۵               | ۵۰/۱۱                              | ۲۸/۰۰                           |
| ۸     | ۱/۵            | ۴۰                | ۳/۵               | ۵۴/۸۳                              | ۲۶/۹۴                           |
| ۹     | ۱/۵            | ۴۰                | ۳/۵               | ۵۰                                 | ۲۵/۶۹                           |
| ۱۰    | ۱/۵            | ۴۰                | ۳/۵               | ۴۷/۹۳                              | ۲۵                              |
| ۱۱    | ۱/۵            | ۴۰                | ۳/۵               | ۴۹/۴۷                              | ۲۸/۱۲                           |
| ۱۲    | ۱              | ۴۰                | ۳/۵               | ۶۵/۲۹                              | ۲۸/۸۹                           |
| ۱۳    | ۱/۵            | ۴۰                | ۵                 | ۵۶/۳۳                              | ۳۱/۲۳                           |
| ۱۴    | ۱/۵            | ۴۰                | ۲                 | ۴۴/۹۳                              | ۳۳/۸۹                           |
| ۱۵    | ۲              | ۴۰                | ۳/۵               | ۴۴/۳۷                              | ۳۴/۶۲                           |
| ۱۶    | ۱              | ۴۵                | ۲                 | ۴۸/۳۴                              | ۴۴/۵۶                           |
| ۱۷    | ۲              | ۴۵                | ۲                 | ۲۹/۶۴                              | ۵۱/۹۸                           |
| ۱۸    | ۱              | ۴۵                | ۵                 | ۷۲/۵۱                              | ۴۱/۷۳                           |
| ۱۹    | ۲              | ۴۵                | ۵                 | ۴۳/۲۹                              | ۴۸/۲۸                           |
| ۲۰    | ۱/۵            | ۴۵                | ۳/۵               | ۴۳/۱۹                              | ۴۱/۰۰                           |

جدول ۳- ویژگی‌های کنجاله کدو

| ویژگی*  | درصد         |
|---------|--------------|
| پروتئین | ۴۸/۵۷ ± ۳/۵۱ |
| چربی    | ۸/۹۳ ± ۰/۵۸  |
| رطوبت   | ۶/۲۴ ± ۰/۵۲  |
| خاکستر  | ۷/۱۱ ± ۰/۱۷  |

\* نتایج میانگین سه تکرار هستند

### تأثیر متغیرهای مستقل بر خاصیت مهارکنندگی رادیکال

DPPH

### اثر متقابل غلظت آنزیم و دمای هیدرولیز بر خاصیت

### مهارکنندگی رادیکال DPPH

تأثیر غلظت آنزیم و دمای هیدرولیز بر مهار رادیکال DPPH در شکل ۱ آورده شده است. افزایش غلظت آنزیم منجر به کاهش در قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد شد. افزایش دمای هیدرولیز نیز منجر به کاهش در این ویژگی اما با شدت اثر کمتری گردید، در حالی که بالاترین قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH در دمای ۳۵

درجه سانتی‌گراد مشاهده شد.

از خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH برای بررسی قابلیت هیدروژن‌دهندگی پروتئین‌های هیدرولیز شده استفاده می‌شود. حذف رادیکال آزاد مکانیزمی است که توسط آن ترکیبات ضداکسایش قادر هستند از واکنش‌های اکسایشی جلوگیری نمایند. رادیکال DPPH یکی از محدود رادیکال‌های پایدار در دمای اتاق است. زمانی که این ترکیب در مجاورت یک ترکیب هیدروژن‌دهنده مانند یک ضداکساینده قرار گیرد، یک هیدروژن پذیرفته، به یک ترکیب پایدار تبدیل شده و در نتیجه‌ی مهار رادیکال، تغییر رنگ محسوس از بنفش به زرد و کاهش میزان جذب در ۵۱۷ نانومتر مشاهده می‌گردد

(طاهری و همکاران، ۱۳۹۱).

جدول ۴- جدول تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) مربوط به آزمون شلاته‌کنندگی یون فرو و مهار رادیکال DPPH

| فاکتور                      | درجه آزادی | مجموع مربعات   | میانگین مربعات | F-Value | P        |
|-----------------------------|------------|----------------|----------------|---------|----------|
| <b>شلاته‌کنندگی یون فرو</b> |            |                |                |         |          |
| مدل                         | ۹          | ۱۱۵۳/۷۸        | ۱۲۸/۲۰         | ۴۵/۴۶   | < ۰/۰۰۰۱ |
| غلظت آنزیم                  | ۱          | ۹۴/۱۳          | ۹۴/۱۳          | ۳۳/۳۸   | ۰/۰۰۰۲   |
| زمان                        | ۱          | ۱۸/۴۷          | ۱۸/۴۷          | ۶/۵۵    | ۰/۰۲۸۴   |
| دما                         | ۱          | ۲۲۳/۱۶         | ۲۲۳/۱۶         | ۷۹/۱۴   | < ۰/۰۰۰۱ |
| آنزیم × آنزیم               | ۱          | ۲۰/۵۱          | ۲۰/۵۱          | ۷/۲۷    | ۰/۰۲۲۴   |
| زمان × زمان                 | ۱          | ۴۴/۷۹          | ۴۴/۷۹          | ۱۵/۸۹   | ۰/۰۰۲۶   |
| دما × دما                   | ۱          | ۱۶۸/۲۱         | ۱۶۸/۲۱         | ۵۹/۶۵   | < ۰/۰۰۰۱ |
| آنزیم × زمان                | ۱          | ۷/۲۴           | ۷/۲۴           | ۲/۵۷    | ۰/۱۴۰۲   |
| آنزیم × دما                 | ۱          | ۱/۹۹           | ۱/۹۹           | ۰/۷۱    | ۰/۴۲۰۵   |
| زمان × دما                  | ۱          | ۰/۵۷           | ۰/۵۷           | ۰/۲۰    | ۰/۶۶۳۴   |
| باقیمانده                   | ۱۰         | ۲۸/۲           | ۲/۸۲           |         |          |
| عدم برازش                   | ۵          | ۱۹/۸۳          | ۳/۹۷           | ۲/۳۷    | ۰/۱۸۲۷   |
| خطای خالص                   | ۵          | ۸/۳۷           | ۱/۶۷           |         |          |
| <b>کل</b>                   | <b>۱۹</b>  | <b>۱۱۸۱/۹۸</b> |                |         |          |
| <b>مهار رادیکال DPPH</b>    |            |                |                |         |          |
| مدل                         | ۳          | ۲۳۲۰/۴۰        | ۷۷۳/۴۷         | ۶۰/۰۵   | < ۰/۰۰۰۱ |
| غلظت آنزیم                  | ۱          | ۱۰۸۸/۶۸        | ۱۰۸۸/۶۸        | ۸۴/۵۲   | < ۰/۰۰۰۱ |
| دما                         | ۱          | ۳۵۴/۵۰         | ۳۵۴/۵۰         | ۳۷/۵۲   | < ۰/۰۰۰۱ |
| زمان                        | ۱          | ۸۷۷/۲۲         | ۸۷۷/۲۲         | ۶۸/۱    | < ۰/۰۰۰۱ |
| باقیمانده                   | ۱۶         | ۲۰۶/۰۹         | ۱۲/۸۸          |         |          |
| عدم برازش                   | ۱۱         | ۱۷۷/۲۵         | ۱۶/۱۱          | ۲/۷۹    | ۰/۱۳۳۳   |
| خطای خالص                   | ۵          | ۲۸/۸۳          | ۵/۷۷           |         |          |
| <b>کل</b>                   | <b>۱۹</b>  | <b>۲۵۲۶/۴۹</b> |                |         |          |

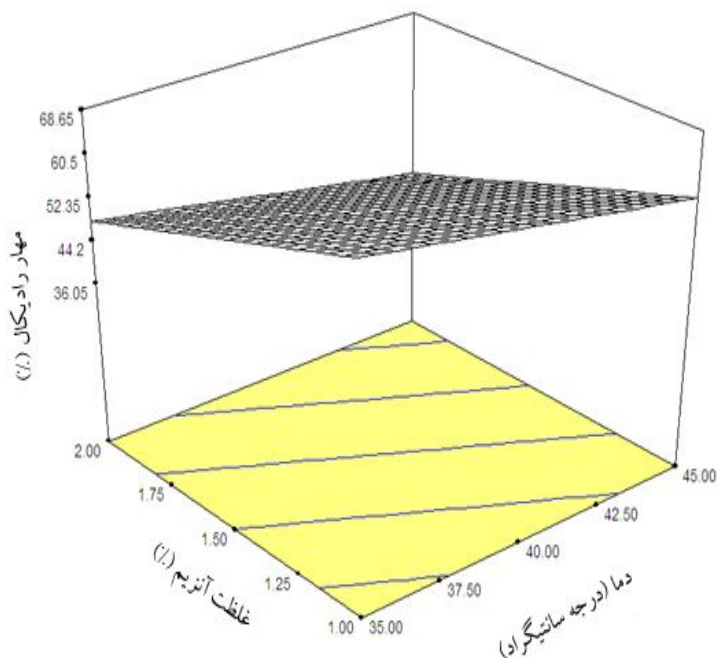
سوبسترا از عوامل تأثیرگذار بر درجه هیدرولیز و قدرت مهار رادیکال DPPH هستند. در تحقیق انجام شده توسط Wiriaphan و همکاران (۲۰۱۲) بر هیدرولیز سوریمی توسط آلکالاز، پیپسین، تریپسین و پروتئیناز حاصل از *Virgibacillus* نیز وجود رابطه مستقیم میان درجه هیدرولیز و خاصیت ضدکسایش پپتیدهای تولیدی تأیید نشد و ساختار اسید آمینه‌های موجود در پپتیدها تأثیر بیشتری در ایجاد خاصیت ضدکسایش داشت.

#### تأثیر تغییرات غلظت آنزیم و زمان هیدرولیز بر میزان مهارکنندگی رادیکال DPPH

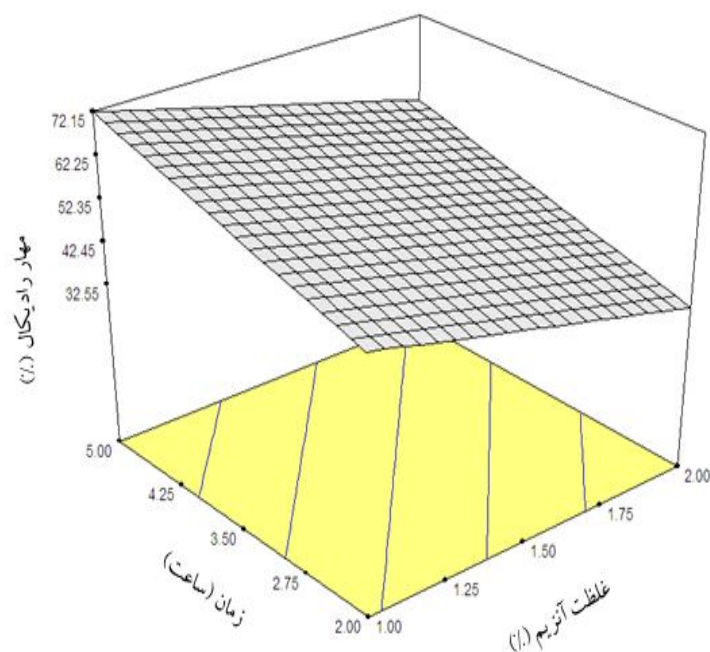
با افزایش غلظت آنزیم میزان مهارکنندگی رادیکال DPPH کاهش یافت، در حالی که افزایش زمان هیدرولیز منجر به افزایش خاصیت مهارکنندگی رادیکال گردید (شکل ۲). کم بودن خاصیت ضدکسایش نمونه‌های هیدرولیز شده در مراحل اولیه هیدرولیز را می-

اعتقاد بر این است که نوع ماده اولیه، اختصاصی بودن آنزیم، شرایط هیدرولیز و اندازه، میزان و ساختار اسیدهای آمینه و پپتیدهای تولیدی از فاکتورهای مؤثر بر فعالیت ضدکسایش به شمار می‌روند (مهرگان و همکاران، ۱۳۹۲). کاهش قابلیت مهارکنندگی رادیکال با افزایش غلظت آنزیم می‌تواند به علت اثر هضم‌کنندگی آنزیم بر پپتیدهای تولیدی باشد. با افزایش غلظت آنزیم، امکان اثر بیشتر بر ماده پروتئینی افزایش یافته و این امر منجر به شکسته شدن تعدادی از پپتیدهای ضدکسایش تولید شده در مراحل اولیه هیدرولیز می‌گردد (مشکین فر و همکاران، ۱۳۹۳). در تحقیق انجام شده توسط Kamau و Lu (۲۰۱۱) بر هیدرولیز کنسانتره پروتئین آب پنیر توسط تریپسین، افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا از ۱ تا ۳٪ تأثیر معناداری بر افزایش خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH نداشت. به‌علاوه رابطه مستقیمی میان درجه هیدرولیز و قدرت مهار رادیکال DPPH در این نمونه‌ها مشاهده نشد. بر طبق گزارش این محققین دما، pH و غلظت

توان به کم بودن فرصت آنزیم برای اثرگذاری بر سوبسترا و تولید پپتیدهای با قابلیت ضد اکسایش نسبت داد. با افزایش زمان هیدرولیز و کاهش اندازه پپتیدهای تولیدی بر قابلیت حذف رادیکال‌های آزاد توسط پپتیدها افزوده می‌شود.



شکل ۱- نمودار سه بعدی و کانتور تأثیر غلظت آنزیم و دمای هیدرولیز بر خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH



شکل ۲: تأثیر غلظت آنزیم و زمان هیدرولیز بر خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

شکل عمیقی بر طول زنجیره پپتیدی و معرض گیری گروه‌های اسیدهای آمینه انتهایی در زنجیره تأثیر خواهد داشت (Khantaphant *et al.*, 2011). گزارش شده است که برخی از اسیدهای آمینه و مشتقات آنها مانند سیستئین، هیستیدین، تریپتوفان، لایزین، آرژنین، لوسین، تیروزین و والین دارای فعالیت ضد اکسایشی هستند (Xie *et al.*, 2008). به علاوه تری پپتیدهایی که حاوی اسیدهای آمینه تریپتوفان یا تیروزین در انتهای C خود هستند قدرت ضد اکسایش قابل ملاحظه‌ای از خود بروز می‌دهند (Cumby *et al.*, 2008).

#### تأثیر غلظت آنزیم و دمای هیدرولیز بر مهار یون آهن

همانگونه که اشاره شد غلظت آنزیم در نواحی میانی کمترین اثر را در ممانعت از فعالیت یون فرو داشت، در حالی که این میزان در غلظت ۲٪ آنزیم به حداکثر خود رسید. از دمای ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی گراد یک کاهش ناچیز و از ۴۰ تا ۴۵ درجه سانتی گراد یک افزایش شدید در قدرت شلاته‌کنندگی یون فرو مشاهده شد و حداکثر قابلیت شلاته‌کنندگی مربوط به دمای ۴۵ درجه سانتی گراد بود (شکل ۴).

این موضوع به اثبات رسیده است که یون‌های فلزی نقش مهمی را در شکل گیری واکنش‌های اکسایش بر عهده دارند. یون آهن قادر به کاتالیز کردن واکنشی به نام Haber-Weiss است که منجر به تحریک آنیون سوپراکسید و شکل گیری گونه‌های خطرناک رادیکال هیدروکسیل می‌گردد. این رادیکال‌ها سریعاً با بافت‌های زنده وارد واکنش شده و منجر به ایجاد صدمات جدی خواهند شد. گزارش شده است که مهارشدن رادیکال‌های هیدروکسیل از طریق ضد اکسایندها عمدتاً از طریق تشکیل پیوند با یون‌های فلزی امکان پذیر است. از آنجائی که دخالت در فعالیت کاتالیتیک یون‌های فلزی ممکن است بر فعالیت‌های اکسایشی تأثیرگذار باشد، اندازه گیری قابلیت شلاته‌کنندگی نقش مهمی را در بررسی توانائی ترکیب در مهار رادیکال‌های آزاد دارد (Xie *et al.*, 2008).

این موضوع مکرراً تأکید شده است که پپتیدهای مختلف با اندازه و توالی اسید آمینه متفاوت، وجود گروه‌های خاص در زنجیره جانبی اسیدهای آمینه و یا وجود ساختارهای خاص پپتیدی نقش مهمی در ایجاد خواص شلاته‌کنندگی دارند (Taha *et al.*, 2011; Nalinanon *et al.*, 2011). تصور بر این است که اسیدهای آمینه تریپتوفان، متیونین و تیروزین و به دنبال آنها سیستئین، هیستیدین و فنیل آلانین دارای قابلیت بالایی در شلاته کردن یون‌های فلزی هستند (Zhu *et al.*, 2006). با توجه به گزارشات می‌توان نتیجه گرفت در اثر هیدرولیز در غلظت ۲٪ آنزیم، دمای ۴۵ درجه سانتی گراد و زمان ۲ ساعت احتمال تشکیل این دسته از پپتیدها بیشتر بوده است.

به عقیده محققین پپتیدهای با وزن ملکولی کمتر از ۶۰۰۰ دالتون و تعداد ۲-۲۰ اسید آمینه در زنجیره پپتیدی خاصیت ضد اکسایش بیشتری از خود بروز می‌دهند (Amza *et al.*, 2013; Ren *et al.*, 2010). در تحقیقی که توسط Amza و همکاران (۲۰۱۳) بر پروتئین هیدرولیز شده حاصل از نان زنجیلی انجام گرفت، هیدرولیز دو مرحله‌ای توسط آنزیم پپسین و تریپسین منجر به افزایش فعالیت ضد اکسایشی در طول ۱۸۰ دقیقه هیدرولیز گردید. در تحقیق انجام شده توسط Tang و همکاران (۲۰۰۹) بر هیدرولیز پروتئین گیاه شاهدانه توسط شش پروتئاز آلکالاز، فلیورزایم، نوتراز، پروتامکس، پپسین و تریپسین نتایج مشابه در مورد تأثیر زمان هیدرولیز بر خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد بدست آمد. بنابر گزارش این محققین فرایند هیدرولیز آنزیمی می‌تواند به عنوان یک تکنیک مؤثر در تولید محصولات ارزش افزائی شده مورد استفاده قرار گیرد. در اثر تخریب ساختمان طبیعی پروتئین‌ها با پیشرفت هیدرولیز، احتمال باز شدن ساختار پروتئین و قرار گرفتن اسیدهای آمینه فعال در سطح وجود دارد، و این اسیدهای آمینه می‌توانند با گونه‌های فعال رادیکال وارد واکنش شده و آنها را غیرفعال نمایند (sun *et al.*, 2011). این موضوع نشان داده شده است که با افزایش زمان هیدرولیز از ۲ به ۴ ساعت شاخص IC50 کاهش و بنابراین میزان مهارکنندگی رادیکال DPPH افزایش می‌یابد که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد (Tang *et al.*, 2009).

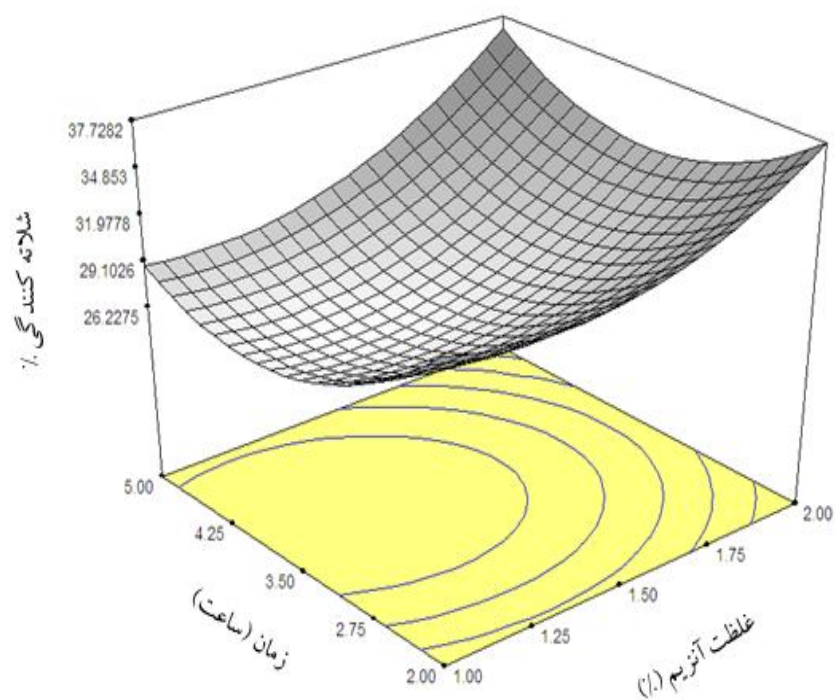
#### تأثیر متغیرهای مستقل بر خاصیت شلاته‌کنندگی یون فرو

##### نقش زمان - غلظت آنزیم بر خاصیت شلاته‌کنندگی یون فرو

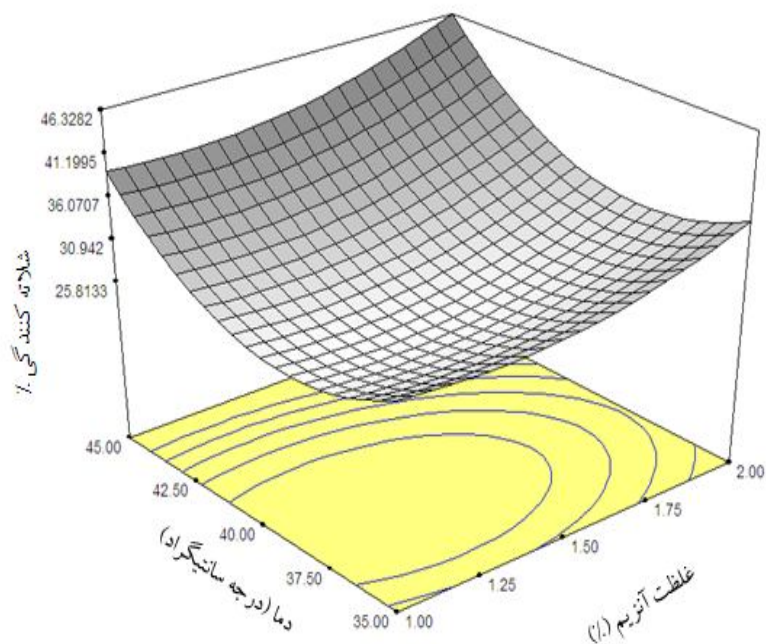
نقش زمان و غلظت آنزیم بر خاصیت شلاته‌کنندگی یون فرو در شکل ۳ نشان داده شده است. بیشترین اثر شلاته‌کنندگی یون فرو در غلظت ۲٪ آنزیم و زمان ۲ ساعت هیدرولیز مشاهده شد و کمترین میزان این ویژگی مربوط به غلظت آنزیم ۱٪ و زمان ۳/۵ ساعت هیدرولیز بود.

فروزی‌ن قادر به ایجاد یک کمپلکس بنفش رنگ با یون آهن است. زمانی که ترکیب شلاته‌کننده‌ای در محیط وجود داشته باشد، میزان یا غلظت یون آهن کاهش یافته و از شدت رنگ این کمپلکس کاسته خواهد شد. بنابراین با افزایش قابلیت شلاته‌کنندگی یون آهن شدت رنگ کمپلکس ایجاد شده و در نتیجه میزان جذب در ۵۶۲ نانومتر کاهش خواهد یافت

بطور کلی زمانی که یک ترکیب خاص تحت تأثیر تیمارهای متفاوتی قرار گیرد، پپتیدهایی با خواص متفاوت ایجاد خواهند شد، بنابراین با اعمال شرایط مختلف می‌توان پپتیدهای متفاوتی را از یک نمونه خاص تولید کرد. این تیمار ممکن است بر روی ساختار پروتئین و در نقاط مختلفی از زنجیره پپتیدی اثر بگذارد. درجه هیدرولیز نیز به



شکل ۳- تأثیر غلظت آنزیم و زمان هیدرولیز بر خاصیت شلاته‌کنندگی یون فرو



شکل ۴- نمودار سه‌بعدی و کانتور خاصیت شلاته‌کنندگی یون فرو در غلظت آنزیم و دماهای متفاوت

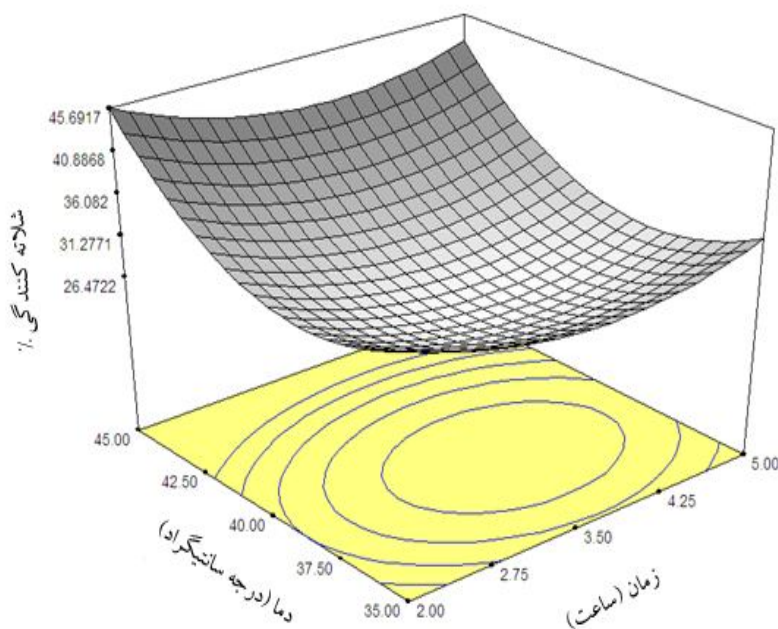
در تحقیقاتی که توسط Jamdar و همکاران (۲۰۱۰) و Hmidet و همکاران (۲۰۱۱) به ترتیب در مورد خواص ضد اکسایشی پروتئین نخود و پروتئین ده پا (*Sepia officinalis*) انجام گرفت، خاصیت شلاته‌کنندگی با افزایش درجه هیدرولیز افزایش معنی‌داری نشان داد و پیشنهاد شد که درجات هیدرولیز بالاتر منجر به شکسته شدن پیوندهای پپتیدی بیشتر و ایجاد خاصیت ضد اکسایش بالاتر خواهد شد.

#### اثر زمان و دمای هیدرولیز بر شلاته‌کنندگی یون آهن

شکل ۵ نمودار سه بعدی و کانتور اثر متقابل زمان و دمای هیدرولیز را بر قدرت شلاته‌کنندگی نشان می‌دهد. در قسمت‌های میانی یعنی زمان ۳/۵ ساعت حداقل شلاته‌کنندگی مشاهده شد و دو انتها به ویژه در زمان ۲ ساعت قدرت شلاته‌کنندگی از سایر زمان‌ها بیشتر بود. شرایط مشابه در مورد اثر دما نیز مشاهده شد. به این صورت که کمترین اثر شلاته‌کنندگی مربوط به دمای میانی (۴۰ درجه سانتی‌گراد) بود و از دمای ۴۰ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد افزایش شدیدی در قدرت شلاته‌کنندگی دیده شد.

نتایج تحقیقات انجام شده وجود یک تضاد را میان قابلیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون فرو نشان داده

است. به عبارت دیگر الزاما یک رابطه مستقیم میان این دو ویژگی وجود نخواهد داشت. مقایسه نتایج حاصل از بررسی قدرت شلاته‌کنندگی یون فرو و قدرت احیاکنندگی رادیکال DPPH در این تحقیق نیز وجود چنین تضادی را تأیید کرد. با توجه به جدول ۳ بیشترین خاصیت احیاکنندگی رادیکال DPPH (۷۸٪) مربوط به غلظت ۱٪ آنزیم، دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۵ ساعت بود که اثر شلاته‌کنندگی نسبتاً ضعیفی (۳۱/۴۴٪) از خود بروز داد. در مقابل بالاترین قدرت شلاته‌کنندگی در غلظت ۲٪ آنزیم، زمان ۲ ساعت و دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به میزان ۵۱/۹۸٪ مشاهده شد که معادل با قدرت مهارکنندگی رادیکال ۲۹/۶۴٪ بود. این موضوع احتمالاً مربوط به ایجاد پپتیدهایی با اندازه و ترکیب متفاوت بوده است (Je et al., 2009). کاهش خاصیت شلاته‌کنندگی از زمان ۲ تا ۳/۵ ساعت را می‌توان به کاهش در طول زنجیره‌های پپتیدی نیز مربوط دانست. به علاوه افزایش این ویژگی از زمان ۳/۵ تا ۵ ساعت هیدرولیز ممکن است به علت افزایش معرض‌گیری بیشتر مکان‌های فعال و اسیدهای آمینه مؤثر مانند هیستیدین که قادر به واکنش دادن با یون آهن و شلاته‌کردن آن می‌باشند، باشد (Tang et al., 2009).



شکل ۵- نمودار کانتور و سه‌بعدی اثر زمان و دمای هیدرولیز بر خاصیت شلاته‌کنندگی یون فرو

#### اعتبارسنجی مدل

برای بررسی میزان اعتبار مدل ارائه شده، تیمارهای بهینه پیشنهاد شده توسط نرم افزار Design Expert از نظر خواص مهارکنندگی

رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون فرو مورد بررسی قرار گرفتند. شرایط بهینه از نظر خاصیت مهار رادیکال DPPH مربوط به دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۵ ساعت هیدرولیز و غلظت آنزیم ۱٪ بود

(کنجاله دانه کدو) را تأیید کرد. نتایج تحقیق نشان داد که از طریق بهینه کردن شرایط هیدرولیز پروتئین مانند تغییر در غلظت آنزیم، دما و زمان هیدرولیز می‌توان به پپتیدهای زیست فعال با قابلیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون فرو دست یافت. پپتیدهای تولید شده در شرایط بهینه هیدرولیز دارای قدرت مهار رادیکال DPPH بیشتری (۷۸٪) نسبت به قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن (۵۱/۹۸٪) بودند. مقدار  $0.009184R^2$  و  $0.009761$  و  $0.001333$  و  $0.001827$  به ترتیب برای خاصیت مهار رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون آهن توسط نرم‌افزار تخمین زده شد که نشان‌دهنده مناسب بودن مدل پیشنهاد شده و برازش مدل بر اساس پاسخ‌های در نظر گرفته شده بود.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب سپاس خود را از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به جهت حمایت‌های مالی در انجام این تحقیق اعلام می‌دارند.

که قابلیت ضداسکایس ۷۵/۸۹٪ برای این تیمار توسط نرم افزار تخمین زده شد. بهینه شرایط از نظر خاصیت شلاته‌کنندگی یون فرو نیز در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲/۰۵ ساعت و غلظت آنزیم ۲٪ و خاصیت شلاته‌کنندگی ۵۰/۸۴٪ توسط نرم‌افزار پیشنهاد شد. به‌منظور تأیید شرایط پیشنهاد شده، تیمارهای بهینه در دو تکرار تولید و خواص مذکور در سه تکرار مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. قابلیت مهارکنندگی رادیکال DPPH در شرایط بهینه برابر با ۷۶/۲۸٪ و خاصیت شلاته‌کنندگی یون آهن برابر با ۴۹/۶۱٪ بدست آمد. این نتایج نشان داد که مدل ارائه شده توسط نرم‌افزار قادر به پیش‌بینی تأثیر فاکتورهای زمان، دما و غلظت آنزیم بر خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیز شده دانه کدو بود.

### نتیجه‌گیری

این تحقیق امکان استفاده از فرایند هیدرولیز آنزیمی به‌منظور ارزش افزائی به یک فراورده جانبی حاصل از روغن کنشی دانه کدو

### منابع

- Balti, R., Bougatef, A., El-Hadj Ali, N., Zekri, D., Barkia, A., & Nasri, M. 2010, Influence of degree of hydrolysis on functional properties and angiotensin I-converting enzyme-inhibitory activity of protein hydrolysates from cuttlefish (*Sepia officinalis*) by-products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(12), 2006-2014.
- Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*, 114(4), 1198-1205.
- Cumby, N., Zhong, Y., Nacz, M., & Shahidi, F. 2008. Antioxidant activity and water-holding capacity of canola protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 109, 144-148.
- Hmidet, N., Balti, R., Nasri, R., Sila, A., Bougatef, A., & Nasri, M. 2011, Improvement of functional properties and antioxidant activities of cuttlefish (*Sepia officinalis*) muscle proteins hydrolyzed by *Bacillus mojavensis* A21 proteases. *Food Research International*, 44(9), 2703-2711.
- Jamdar, S., Rajalakshmi, V., Pednekar, M.D., Juan, F., Yardi, V., & Sharma, A. 2010, Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 121(1), 178-184.
- Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P., & Sakariah, K.K. 2001, Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, 73(3), 285-290.
- Je, J.Y., Lee, K.H., Lee, M.H., & Ahn, C.B. 2009, Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates produced from tuna liver by enzymatic hydrolysis. *Food Research International*, 42(9), 1266-1272.
- Kamau, S.M., & Lu, R.R. 2011, the effect of enzymes and hydrolysis conditions on degree of hydrolysis and DPPH radical scavenging activity of whey protein hydrolysates. *Current Research in Dairy Sciences*, 3, 25-35.
- Khantaphant, S., Benjakul, S., & Ghomi, M.R. 2011, the effects of pretreatments on antioxidative activities of protein hydrolysate from the muscle of brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). *LWT-Food Science and Technology*, 44(4), 1139-1148.
- Khantaphant, S., Benjakula, S., & Kishimurab, H. 2011, Antioxidative and ACE inhibitory activities of protein hydrolysates from the muscle of brownstripe red snapper prepared using pyloric caeca and commercial proteases. *Process Biochemistry*, 46(1), 318-327.
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., Shahidi, F. 2007, Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptocephalus*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102(4), 1317-1327.
- Lazos, E.S. 1986, Nutritional, fatty acid, and oil characteristics of pumpkin and melon seeds. *Journal of food science*, 51(5), 1382-1383.

- Mehrgan nikoo, A., Sadeghi mahoonak, A.R., Ghorbani, M., Taheri, A., & Aalami, M. 2014, Optimization of different factors affecting antioxidant activity of crucian carp (*Carassius carassius*) protein hydrolysate by response surface methodology. *Food Processing and Preservation Journal*, 1, 95-110.
- Meshginfar, N., Sadeghi mahoonak, A.R., ziaeefer, A.M., Ghorbani, M., & Kashani nejad, M. 2015, Evaluation of antioxidant activity of bioactive peptides prepared from meat industry by-products. *Journal of Food Science and Technology*, 2, 215-225.
- Mohamed, R.A., Ramadan, R.S., & Ahmed, L.A. 2009, Effect of substituting pumpkin seed protein isolate for casein on serum liver enzymes, lipid profile and antioxidant enzymes in CCl4-intoxicated rats. *Advances in Biological Research*, 3(1-2), 9-15.
- Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H., & Shahidi, F. 2011, Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. *Food Chemistry*, 124(4), 1354-1362.
- Ren, J., Zheng, X.Q., Liu, X.L., & Liu, H. 2010, Purification and characterization of antioxidant peptide from sunflower protein hydrolysate. *Food Technology and Biotechnology*, 48(4), 519-523.
- Sun, Q., Shen, H., & Luo, Y. 2011, Antioxidant activity of hydrolysates and peptide fractions derived from porcine hemoglobin, 48(1), 53-60.
- Taha, F. S., Mohamed, S.S., Wagdy, S.M., & Mohamed, G.F. 2013, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Enzymatic Hydrolysis Products from Sunflower Protein Isolate. *World Applied Sciences Journal*, 21(5), 651-658.
- Taheri, A., Jalali nejad, S., & Anvar, S.A.A. 2013, Anti-hypertensive and Anti-oxidative Properties of Five Protein Hydrolysates from White Shrimp (*Penaeus indicus*) By-products. *Comparative Pathobiology*, 1, 599-608.
- Tang, C.H., Wang, X.S., & Yang, X.Q. 2009, enzymatic hydrolysis of hemp (*Cannabis sativa*) protein isolate by various proteases and antioxidant properties of the resulting hydrolysates. *Food Chemistry*, 114(4), 1484-1490.
- Torruco-Uco, J., Chel-Guerrero, L., Marti'nez-Ayala, A., Da'vila-Orti'z, G., & Betancur-Ancona, D. 2009, Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities of protein hydrolysates from *Phaseolus lunatus* and *Phaseolus vulgaris* seeds. *LWT-Food Science and Technology*, 42(10), 1597-1604.
- Villanueva, A., Vioque, J., Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Pedroche, J., Bautista, J., & Millán, F. 1999, Peptide characteristics of sunflower protein hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(12), 1455-1460.
- Vioque, J., Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Pedroche, J., Bautista, J., & Millan, F. 1999, Production and characterization of an extensive rapeseed protein hydrolysate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(7), 819-823.
- Wiriayaphan, C., Chitsomboon, B., & Yongsawadigul, J. 2012, Antioxidant activity of protein hydrolysates derived from threadfin bream surimi byproducts. *Food Chemistry*, 132, 104-111.
- Xie, Z., Huang, J., Xu, X., & Jin, Z. 2008, Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 111(2), 370-376.
- Zhu, K., Zhou, H., & Qian, H. 2006, Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. *Process Biochemistry*, 41(6), 1296-1302.



## The optimization of the production of anti-oxidative peptides from enzymatic hydrolysis of Pumpkin seed protein

E. Nourmohammadi<sup>1</sup>, A.R. Sadeghimahoonak<sup>\*2</sup>, M. Ghorbani<sup>2</sup>, M. Alami<sup>2</sup> and M. Sadeghi<sup>3</sup>

Received: 2015.03.17

Accepted: 2015.10.31

**Introduction:** Proteins are vital substances for health since they provide nitrogen, amino acids and the energy required for normal body performance. However, the applications of proteins are limited due to their certain properties, such as their low solubility. The enzymatic hydrolysis of proteins is an extensively used approach to produce bioactive peptides and promote the chemical, functional and nutritional properties of proteins. These compounds have interesting biological properties such as anti-oxidative, anti-hypertensive, anti-bacterial, anti-cancer and anti-thrombotic activities. Lipid peroxidation is one of the main reasons behind the deterioration of foodstuffs during processing and storage. In this case, the addition of anti-oxidative compounds is considered as an effective way to improve the shelf-life of lipid containing foods. Due to carcinogenic effect of synthetic anti-oxidative compounds, extensive efforts have been done to find natural anti-oxidative compounds with plant origin during recent years. Pumpkin (*Cucurbitapepo*) seeds are rich of proteins, unsaturated fatty acids, phytosterols and essential minerals like Zn, K, Ca, Mg, Fe, Cu and P. Oil content of pumpkin seeds is about 40-60%, and mostly consisted of oleic, palmitic and stearic acids. On the other hand, its protein content is about 45-46%, and this amount will reach to 55-56% after defatting. To date, pumpkin seeds have been mainly used for pumpkin oil production. After the oil extraction, a protein-rich by-product (pumpkin oil cake) remains, which is often used for animal feeding. In this study, the enzymatic hydrolysis of pumpkin oil cake protein isolate by a food-grade protease named trypsin was attempted and the optimum treatment was selected based on the DPPH radical scavenging and ferrous ion chelating activities

**Materials and Methods:** In this study, the optimization of the hydrolysis of pumpkin (*Cucurbitapepo*) oil cake protein was investigated using response surface methodology (RSM) and central composite design (CCD) in order to achieve the maximum DPPH radicals scavenging and metal ion chelating activities. For this purpose, trypsin concentrations of 1-2% and hydrolysis temperatures and times of 35-45 °C and 2-5 hours were examined as independent variables.

### *Preparations of pumpkin oil cake protein isolate (POCPI)*

Defatted pumpkin oil cake was dispersed in distilled water (1:10 w/v). The pH was adjusted to 10 with 1N NaOH, mixed for 1 hour at room temperature and centrifuged at 5000g for 20 minutes (Combi514R, South Korea). The supernatant was collected, pH was adjusted to 5 with 1N HCl and centrifugation was performed at the same condition. Supernatant was discarded and precipitate was collected as pumpkin oil cake protein isolate.

### *Enzymatic hydrolysis*

Pumpkin oil cake protein isolate was dispersed in tris-HCl at pH= 8 for trypsin enzymatic treatment (5% w/v). After that, trypsin was added at 1%, 1.5% and 2% and hydrolysis was carried out for 2, 3.5 and 5h at 200 rpm in shaker incubator (8480-VS, South Korea). Hydrolysis temperatures were 35, 40 and 45°C. At the end of hydrolysis, the enzyme was inactivated for 15 minutes at 85°C; dispersion was centrifuged at 4000g for 30 minutes, the supernatant was collected and freeze dried.

### *DPPH radical scavenging activity*

An aliquot of 1000 microliter pumpkin oil cake protein hydrolysate was mixed with 1000 microliter of 0.1mM DPPH solution prepared in 96% ethanol. The mixture was allowed to stand for 60 minutes in the dark and the

1. PhD graduated of Food Science, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
  2. Associate Professors, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
  3. Faculty Member, Isfahan Cardiovascular Research Center.
- (\*Corresponding Author Email: sadeghiaz@yahoo.com)

absorbance was read at 517 nm. The blank was prepared with the same manner except that 1000 microliter water was used instead of 1000 microliter pumpkin oil cake proteinhydrolysate.

***Ferrous ion chelating activity***

Pumpkin oil cake protein hydrolysate(4.7 ml) was mixed with 0.1 ml 2mM FeCl<sub>2</sub> and 0.2 ml 5 mM ferrozine and was kept at room temperature for 20 min. The absorbance was read at 562 nm and the blank sample was prepared with the same manner except that 4.7 ml distilled water was used instead of sample.

**Results & Discussions:** The results of this study, showed that the optimum conditions to reach the maximum DPPH radicals scavenging and metal ion chelating activities were 35 °C, 5h, 1.1% enzyme concentration and 45 °C, 2.05h and 2% enzyme concentration that showed DPPH radicals scavenging and metal ion chelating activities of 76.28% and 49.61% respectively. These results were to large extent similar to those suggested by Design Expert software (75.89% and 50.84%). The R<sup>2</sup> was 0.9184% and 0.9761% for DPPH radicals scavenging and metal ion chelating activities respectively. Moreover the adjusted R<sup>2</sup> was estimated to be 0.1333 and 0.1827 for DPPH radicals scavenging and metal ion chelating activities respectively, which suggested the suitability and fitness of proposed model for the considered responses.

**Conclusions:** Based on the results, pumpkin oil cake protein hydrolysate demonstrated appropriate anti-oxidative and metal ion chelating abilities. The results of this study indicated that pumpkin oil cake protein hydrolysate had the ability to be used as an effective and natural anti-oxidative compound in lipid containing foods.

**Keywords:** Pumpkin seed, enzymatic hydrolysis, trypsin, Response Surface Method

## بهینه‌سازی پارامترهای عملیاتی دیگ پخت در حین استخراج روغن و تولید کنجاله آفتاب‌گردان در مقیاس صنعتی

حمید بخش آبادی<sup>۱\*</sup>، محمد رستمی<sup>۲</sup>، معصومه مقیمی<sup>۳</sup>، ابوالفضل بوژ مهرانی<sup>۲</sup>، انه بی بی بهلکه<sup>۴</sup>، نگار تورانی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۱۶

### چکیده

مرسوم‌ترین روش‌های استخراج روغن از دانه‌های روغنی، استفاده از پرس و حلال می‌باشد. در پژوهش حاضر، تأثیر درجه حرارت پخت (۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت (۷/۵ و ۸ درصد) بر برخی از خصوصیات شیمیایی روغن آفتاب‌گردان از جمله میزان مواد ریز نامحلول در روغن، اسیدیته، میزان رطوبت، پروتئین و روغن کنجاله بررسی شد. تجزیه و تحلیل آماری و بهینه‌سازی فرایند به روش سطح پاسخ انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش درجه حرارت پخت میزان مواد ریز نامحلول و اسیدیته روغن افزایش ولی میزان رطوبت و روغن در کنجاله کاهش یافت. با افزایش میزان رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت از میزان مواد ریز نامحلول روغن کاسته ولی بر میزان اسیدیته روغن افزوده شد. با توجه به نتایج بهینه‌سازی فرایند می‌توان بیان نمود که اعمال شرایط دمایی در حدود ۷۰ سانتی‌گراد و با رطوبت ۷/۷۳ و ۷/۶۵ درصد دانه‌های خروجی از دیگ پخت منجر به تولید محصولی با حداقل میزان اسیدیته و مواد ریز نامحلول در روغن و کنجاله‌ای با کمترین میزان روغن گردید.

**واژه‌های کلیدی:** بهینه‌سازی، پارامترهای عملیاتی، دیگ پخت، روغن آفتاب‌گردان، مقیاس صنعتی

(خواجه پور، ۱۳۸۵).

### مقدمه

روغن دانه آفتاب‌گردان دارای کیفیت بسیار عالی برای نیازهای تغذیه‌ای است به طوری که در سال‌های اخیر رقم‌های زراعی با درصد روغن بالا و مخصوصاً دارای اسید اولئیک بالا نقش مهمی در پرورش گیاه این محصول داشته است (Gupta and Prakash, 1992). دانه‌های آفتاب‌گردان در حدود ۴۰ درصد روغن دارند که ۱۵ درصد از اسیدهای چرب آن اشباع و ۸۵ درصد آن غیراشباع هستند، همچنین این روغن دارای بالاترین مقدار آلفا توکوفرول در بین روغن‌های خوراکی معمول می‌باشد (مالک، ۱۳۷۹). مرسوم‌ترین روش‌های استخراج روغن از دانه‌های روغنی، استفاده از پرس و حلال می‌باشد که موثرترین روش استخراج روغن آفتاب‌گردان، مانند سایر دانه‌های با درصد روغن بالا نظیر کلزا، پرس مکانیکی و به دنبال آن استخراج با حلال می‌باشد که پرس در حدود ۶۰ درصد و استخراج با حلال مابقی روغن آن را خارج می‌کند (Savoire et al., 2013). هگزان به دلایل اقتصادی و عملی عمده‌ترین حلال مورد استفاده در استخراج روغن از دانه‌های روغنی مختلف نظیر سویا، آفتاب‌گردان و کتان به‌شمار می‌رود. هگزان بازده بسیار بالایی در استخراج روغن از دانه‌های روغنی دارد (Singh et al., 2008).

استفاده از دانه‌های روغنی در مصارف غذایی انسان‌ها و استفاده از کنجاله آن‌ها برای غذای دام و نیز کاربرد در داروسازی، صابون‌سازی و سوخت باعث شده تا هم کشاورزان علاقه زیادی به کشت آن‌ها داشته باشند و هم اینکه دولت‌ها از کشت آن‌ها حمایت کنند (باقری، ۱۳۹۲). در این میان آفتاب‌گردان یکی از عمده‌ترین دانه‌های روغنی در جهان می‌باشد که به دلیل مناسب بودن نیازهای زراعی، عملکرد بالای روغن، بالا بودن ارزش غذایی و فقدان عوامل ضدتغذیه‌ای، سطح زیر کشت آن افزایش یافته است (Kazi et al., 2002). آفتاب‌گردان با نام علمی *Helianthus annuus* گیاهی یک‌ساله و از خانواده گل‌ستاره‌ای‌ها است. این گیاه دولپه‌ای بوده و دارای یک پایه دگرگشن است که باروری آن به کمک باد و حشرات انجام می‌گیرد

۱- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۲- عضو هیات مدیره شرکت پنبه و دانه‌های روغنی خراسان.

۳- استادیار، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گنبد کاووس.

۴- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گنبد کاووس.

(\*) - نویسنده مسئول: (Email: h.bakhshabadi@yahoo.com)

نرمال و فنل فتالین و تجهیزات مورد استفاده شامل: دسیکاتور، آون آزمایشگاهی (M-120-VF، انگلستان)، ترازوی دیجیتالی (GecAvery، ساخت انگلستان)، سانتیفریژ (Thermo، ژاپن) و سوکسله بودند.

### استخراج روغن

دانه‌های روغنی بعد از ورود به کارخانه، وارد سیلوهای نگهداری که به شکل کندو می‌باشند، شده و قبل از ورود به مرحله فرآوری، مواد زائد آن از قبیل خار و خاشاک، سنگ و سایر مواد دیگر توسط بوجاری جداسازی شدند. بعد از تمیز کردن، دانه‌ها وارد کراکر گردید و به ذراتی با اندازه کوچکتر تبدیل و سپس از آنجا وارد دیگ پخت دو جداره شدند. در این مرحله دما و رطوبت دیگ طوری تنظیم گردید که محصول خروجی دارای سه دمای ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد و دانه‌های خروجی در هر دما دارای رطوبت ۷/۵، ۷ و ۸ درصدی باشند، لازم به ذکر است که دانه‌ها برای مدت ۹۰ دقیقه در دیگ پخت قرار گرفتند. در این مرحله با استفاده از دماسنج‌های الکترونیکی دمای پخت به دقت بررسی شد. سپس دانه‌های حرارت دیده به صورت پرک در آمده و روغن آنها در دستگاه پرس حلزونی گرفته شد. مقدار روغن موجود در دانه از حدود ۴۱ درصد به ۲۰-۱۶ درصد کاهش یافت. کیک پرس خروجی دستگاه به مرحله استخراج با حلال (شرایط دمایی ۵۰ درجه سانتی‌گراد و برای ۷ ساعت) فرستاده شد و مابقی روغن کیک پرس با اضافه کردن حلال هگزان به آن گرفته شد. خروجی استخراج کننده، میسلا (مخلوط روغن- حلال) و کنجاله می‌باشد که برای خروج ذرات ریز، میسلا از یک صافی عبور کرده و سپس حلال‌زدایی (برای خارج شدن حلال از میسلا از یک تبخیر کننده دو مرحله ای استفاده شد که بعد از آن در یک ستون تقطیر تحت خلاء با فشار معادل ۷۱۱-۵۹۹ میلی‌متر جیوه که با تزریق بخار زنده به داخل روغن این عمل کامل شد) می‌شود. کنجاله نیز در دستگاه حلال‌زدا- برشته‌کن<sup>۲</sup> (شرایط دمایی ۹۰ درجه سانتی‌گراد، برای ۱۵ دقیقه و ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ دقیقه)، حلال‌زدایی گردید (Bamgboye and Adejumo, 2007, Kurki et al., 2008). استخراج کننده مورد استفاده، استخراج کننده‌های داسمیت بود که نوعی استخراج کننده افقی با جریان ناهمسو حلال و کیک پرس است. برای نمونه برداری از روغن از شیرهای تعبیه شده در طول مسیر استفاده گردید و برای کنجاله از قسمت‌های مختلف انبار به صورت تصادفی نمونه برداری و بعد از اختلاط آن‌ها نمونه آماده شد و آزمایشات ذیل روی روغن و کنجاله حاصل صورت پذیرفت.

روش سطح پاسخ<sup>۱</sup> (RSM) وسیله‌ای آماری مفید و شناخته شده‌ای جهت بهینه‌سازی و مدل‌سازی فرآیندهاست (Gluacia et al., 2012). این روش مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در مدل‌سازی و بهینه‌سازی فرآیندهایی بکار می‌رود که پاسخ مورد نظرتوسط چندین متغیر تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Manivannan and Rajasimman, 2008). تلاش‌های زیادی به‌منظور بهبود کارایی استخراج روغن و بهبود خواص فیزیکوشیمیایی آن از طریق پرس، صورت گرفته است که از جمله آن‌ها می‌توان به پیش تیمارهایی مانند پوست‌گیری، کاهش ذرات، شکستن، خرد کردن، تیمار حرارتی و هیدرولیز آنزیمی به‌منظور ناپایدارسازی دیواره‌های سلولی برای استخراج بهینه روغن، اشاره نمود (Singh et al., 2008). پارامترهای مختلفی بر خواص کمی و کیفی روغن و کنجاله حاصل از دانه‌های روغنی اثرگذار است. بدین منظور Rostami و همکاران (۲۰۱۴) به‌منظور یافتن بهترین شرایط استخراج روغن از دانه‌های کنجد، درجه حرارت دیگ پخت و رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت را تنظیم نمودند و بیان داشتند که با افزایش درجه حرارت مرحله پخت میزان مواد جامد نامحلول در روغن، افزایش می‌یابد. Prior و همکاران (۱۹۹۱) با بررسی اثر حرارت بر کیفیت روغن کلزای استخراج شده، اعلام کردند که افزایش دما منجر به افزایش میزان اسیدیته روغن می‌شود و استخراج روغن در دماهای پایین سبب بهبود کیفیت روغن می‌گردد. محققین دیگری به بررسی پارامترهای موثر بر استخراج روغن از دانه کنجد توسط روش استخراج با حلال فوق بحرانی پرداختند، آنها بیان داشتند، برای دستیابی به حداکثر راندمان باید فشار و دمای فرایند را به ترتیب روی ۲۷۶ بار و ۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم نمود (Odabas and Balaban, 2002). با توجه به اینکه تاکنون هیچ‌گونه پژوهشی در زمینه بهینه نمودن استخراج روغن از دانه‌های آفتاب‌گردان در مقیاس صنعتی صورت نگرفته است به همین دلیل در پژوهش حاضر سعی شد که تاثیر پارامترهای موثر در دیگ پخت بر خصوصیات روغن و کنجاله حاصل از آن مورد بررسی قرار داده شود.

### مواد و روش‌ها

#### تهیه نمونه

دانه‌های آفتاب‌گردان مورد استفاده در این تحقیق از استان گلستان، شهرستان گرگان تهیه و برای انجام تحقیق و استخراج روغن به شرکت پنبه و دانه‌های روغنی خراسان شهرستان نیشابور (یکی از مجهزترین کارخانه‌های روغن‌کشی در ایران) انتقال یافتند. مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق شامل: هگزان، سود ۰/۱

1 Desloventizer - Toaster

1 Response Surface Methodology

دیگ پخت ( $x_1$ ) و رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت ( $x_2$ )، بر میزان اسیدیته و میزان مواد ریز نامحلول در روغن، میزان پروتئین، روغن و رطوبت کنجاله، به‌عنوان پارامترهای متغیر، مورد استفاده قرار گرفت. به کمک این طرح کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها قابل برآورد هستند. مهمترین مسئله در این تحقیق بررسی اثر متقابل فاکتورها و یافتن بهترین شرایط فرآیند استخراج روغن بود از این‌رو طرح آماری سطح پاسخ انتخاب گردید. توابع پاسخ ( $Y$ ) در مورد پارامترهای اندازه‌گیری شده با استفاده از مدل‌های خطی (معادله ۲)، جمله‌ای ساده (معادله ۳)، چند جمله‌ای درجه دوم (معادله ۴) و چند جمله‌ای درجه سوم (معادله ۵) مورد بررسی قرار گرفتند.

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 \quad (2)$$

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 \quad (3)$$

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (4)$$

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 + b_{111}x_1^3 + b_{112}x_1^2x_2 + b_{122}x_1x_2^2 + b_{222}x_2^3 + b_{1111}x_1^4 + b_{1112}x_1^3x_2 + b_{1122}x_1^2x_2^2 + b_{1222}x_1x_2^3 + b_{2222}x_2^4 \quad (5)$$

که در آنها  $b_0$ ،  $b_1$  و  $b_2$ ، ضرایب اثرات اصلی،  $b_{11}$  و  $b_{22}$ ، ضرایب اثرات درجه دوم و  $b_{12}$ ، ضریب اثر متقابل متغیرهای ثابت،  $b_{111}$  و  $b_{222}$ ، ضرایب اثرات درجه سوم،  $b_{112}$ ، اثر متقابل درجه دوم متغیر درجه حرارت دیگ پخت و ساده رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت و  $b_{122}$ ، اثر متقابل ساده متغیر درجه حرارت دیگ پخت و درجه دوم متغیر رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت می‌باشند. آنالیز آماری توسط نرم افزار Design Expert نسخه 6.0.2 صورت گرفت.

## نتایج و بحث

### بررسی روند تغییرات اسیدیته روغن

کمترین مقدار اسیدیته روغن که بر حسب اسید اولئیک اندازه‌گیری شد تحت شرایطی بدست آمد که درجه حرارت دیگ پخت و رطوبت دانه‌های خروجی از آن کمترین مقدار خود را داشتند. همانطور که در شکل ۱ مشخص است افزایش دما از ۷۰ به ۹۰ درجه سانتی‌گراد، باعث افزایش اسیدیته روغن با سرعت ثابتی گردید. افزایش رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت از ۷ تا ۸ درصد به علت تشدید واکنش‌های لیپولیز باعث افزایش اسیدیته روغن گردید که تاثیر میزان رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت بر میزان اسیدیته روغن کمتر از تاثیر درجه حرارت بر میزان اسیدیته بود. با توجه به تجزیه و تحلیل اطلاعات بدست آمده، مشخص گردید که تغییرات درجه حرارت دیگ پخت بیشترین اثرگذاری را در تغییرات میزان اسیدیته روغن دارا بود که این افزایش میزان اسیدیته با افزایش

## میزان رطوبت

اندازه‌گیری رطوبت بر طبق روش ۱۵-۴۴ AOAC، ۳ گرم از نمونه در ظرفی که قبلاً در آن به وزن ثابت رسیده بودند، توزین شد. سپس در آن با دمای  $3 \pm 100$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۵-۳ ساعت خشک گردید که پس از سرد شدن در دسیکاتور و با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد.

$$(1) \quad \text{درصد رطوبت} = ((W_1 - W_2) / M) \times 100$$

در معادله ۱،  $W_1$  وزن اولیه ظرف خالی به همراه نمونه قبل از خشک کردن،  $W_2$  وزن ظرف و نمونه بعد از خشک کردن و  $m$  بیانگر وزن نمونه می‌باشد.

## اسیدیته روغن

برای تعیین اسیدیته روغن از روش 3-63 Cd AOCS (۱۹۹۳) استفاده شد و نتایج بر حسب درصد اسید اولئیک گزارش شد.

## میزان مواد ریز نامحلول در روغن (لرد روغن)

روغن استخراج شده دارای مقداری مواد جامد ریز است که باید از روغن جدا شود. این عمل در تانک‌های ته نشینی انجام و مواد ریز بصورت لرد در انتهای تانک جمع و روغن صاف می‌شود (Bangboye and Adejumo, 2007). برای اندازه‌گیری میزان مواد ریز نامحلول در روغن، ۱۰ میلی‌لیتر روغن به درون لوله‌های سانتریفوژ ریخته شد و سپس با سانتریفوژی با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه همزده شد و در نهایت ده برابر میزان مواد ته نشین شده درون لوله برحسب درصد مواد ریز نامحلول در روغن یا لرد بیان شد (Rostami et al., 2014).

## میزان روغن کنجاله

مقدار روغن کنجاله بر اساس روش ۲۳-۹۹۲ AOAC و با استفاده از حلال هگزان به مدت ۶ ساعت توسط دستگاه سوکسله تعیین شد.

## تعیین میزان پروتئین

میزان ازت در کنجاله با استفاده از دستگاه کج‌لدال تمام اتوماتیک و بر اساس روش ۱۰.۹۸۱ AOAC اندازه‌گیری شد که شامل سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون بود و با استفاده از ضریب تبدیل ۶/۲۵، میزان پروتئین محاسبه گردید.

## تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

روش‌شناسی سطح پاسخ، با استفاده از یک طرح چرخش‌پذیر مرکب مرکزی برای ارزیابی پارامترهای ثابت مطالعه، درجه حرارت

درجه حرارت، به اثر تجزیه شیمیایی تری گلیسریدها و بالا رفتن میزان اسیدهای چرب آزاد مربوط می شود (شکل ۱).

جدول ۱- انتخاب مدل برای پارامترهای مورد اندازه گیری

| مدل ها              | اسیدیته روغن<br>(درصد اسید اولئیک) |            | مواد ریز نامحلول در روغن (%) |            | پروتئین کنجاله (%) |            | روغن کنجاله (%) |            | رطوبت کنجاله (%) |            |
|---------------------|------------------------------------|------------|------------------------------|------------|--------------------|------------|-----------------|------------|------------------|------------|
|                     | مجموع مربعات                       | سطح احتمال | مجموع مربعات                 | سطح احتمال | مجموع مربعات       | سطح احتمال | مجموع مربعات    | سطح احتمال | مجموع مربعات     | سطح احتمال |
| عرض از مبدا         | ۵۵/۳۳                              |            | ۱۲۰/۹۹                       |            | ۹۰۹۲               |            | ۹/۶۸            |            | ۱۵۷۷             |            |
| مدل خطی             | ۱/۴۹                               | ۰/۰۱       | ۶/۶۸                         | ۰/۰۰۱>     | ۱۸۵/۲۱             | ۰/۰۰۱      | ۰/۱۸            | ۰/۰۰۱>     | ۱۷/۶۴            | ۰/۰۰۱>     |
| چندجمله ای          | ۰/۰۱۶                              | ۰/۰۱       | ۰/۰۰۲                        | ۰/۸۷۶      | ۰/۰۰               | ۱/۰۰       | ۰/۰۰۰۹          | ۰/۲۴       | ۰/۰۶۲            | ۰/۲۶       |
| چندجمله ای درجه دوم | ۰/۰۰۳                              | ۰/۴۵       | ۰/۲۳                         | ۰/۶۵۴۰     | ۷/۶۰               | ۰/۰۰۱      | ۰/۰۰۴           | ۰/۷۶       | ۰/۰۱۲            | ۰/۲۹       |
| چندجمله ای درجه سوم | ۰/۰۰۶                              | ۰/۲۳       | ۰/۰۴۲                        | ۰/۸۵       | ۱/۸۱               | ۰/۰۰۲      | ۰/۰۰۴           | ۰/۰۰۴      | ۰/۲۱             | ۰/۳۱       |
| باقیمانده           | ۰/۰۰۷                              |            | ۰/۶۱                         |            | ۰/۱۹               |            | ۰/۰۰۰۵          |            | ۰/۰۶۸            |            |
| کل                  | ۵۶/۸۶                              |            | ۱۲۸/۵۶                       |            | ۹۲۸۷               |            | ۹/۸۷            |            | ۱۵۹۵             |            |

جدول ۲- آنالیز واریانس پارامترهای اندازه گیری شده

| Model                        | A      | B      | A2     | B2    | AB    | باقیمانده | فقدان برداشش | خطای خالص             | مجموع مربعات کل |
|------------------------------|--------|--------|--------|-------|-------|-----------|--------------|-----------------------|-----------------|
| درجه آزادی                   | ۱      | ۱      | ۱      | ۱     | ۱     | ۷         | ۳            | ۴                     | ۱۲              |
| اسیدیته (درصد اسید اولئیک)   | <۰/۰۱  | <۰/۰۱  | <۰/۰۱  | -     | ۰/۰۱۹ | ۰/۰۰۱۸    | ۰/۴۸         | $7/48 \times 10^{-5}$ | ۱/۵۳            |
|                              | ۱/۲۳   | ۰/۲۶   | ۰/۲۱   | -     | ۰/۰۱۶ | ۰/۰۶۳     | ۰/۰۱         |                       |                 |
|                              | ۲/۰۶   | ۰/۴۵   |        |       |       |           |              |                       |                 |
| مواد ریز نامحلول در روغن (%) | <۰/۰۱  | <۰/۰۱  | <۰/۰۱  | -     | -     | ۰/۸۹      | ۰/۸۶         | ۰/۵۷                  | ۷/۵۷            |
|                              | ۶/۶۸   | ۵/۸۰   | ۰/۸۸   | -     | -     | -         | ۰/۳۲         |                       |                 |
|                              | ۳/۰۵   | ۰/۹۸   | -۰/۳۸  | -     | -     | -         |              |                       |                 |
| پروتئین کنجاله (%)           | <۰/۰۱  | <۰/۰۱  | <۰/۰۱  | ۰/۳۸  | ۱/۰۰  | ۲         | ۰/۱۱۷        | ۰/۱۶                  | ۱۹۴/۸۱          |
|                              | ۱۹۲/۸۱ | ۱۶۸/۵۴ | ۱۶/۶۷  | ۵/۳۹  | ۰/۰۰  | ۰/۰۰۲۴    | ۱/۸۴         |                       |                 |
|                              | ۲۷/۲۳  | ۵/۳۰   | -۱/۶۷  | -۱/۴۰ | ۰/۰۰  | -۰/۳۰     |              |                       |                 |
| روغن کنجاله (%)              | <۰/۰۱  | <۰/۰۱  | <۰/۰۱  | -     | -     | ۰/۰۰۶     | ۰/۳۰۷        | $5/2 \times 10^{-4}$  | ۰/۱۹            |
|                              | ۰/۱۸   | ۰/۱۵   | ۰/۲۷   | -     | -     | -         | ۰/۰۰۵        |                       |                 |
|                              | ۰/۸۶   | -۰/۱۶  | -۰/۰۶۷ | -     | -     | -         |              |                       |                 |
| رطوبت کنجاله (%)             | <۰/۰۱  | <۰/۰۱  | <۰/۰۱  | -     | -     | ۰/۴۶      | ۰/۱۰۸        | ۰/۰۶۸                 | ۱۸/۱۰           |
|                              | ۱۷/۶۴  | ۱۴/۴۲  | ۳/۲۳   | -     | -     | -         | ۰/۳۹         |                       |                 |
|                              | ۱۱/۰۲  | -۱/۵۵  | ۰/۷۳   | -     | -     | -         |              |                       |                 |

معادله ۱ ارائه شده در جدول ۳ بیانگر کم بودن اثر متقابل درجه حرارت دیگ پخت و رطوبت دانه های خروجی از دیگ پخت بر میزان اسیدیته روغن بوده است در حالی که اثر مستقل میزان رطوبت دانه های خروجی اثر میانه ای بر افزایش اسیدیته داشت.

#### بررسی روند تغییرات میزان مواد ریز نامحلول در روغن

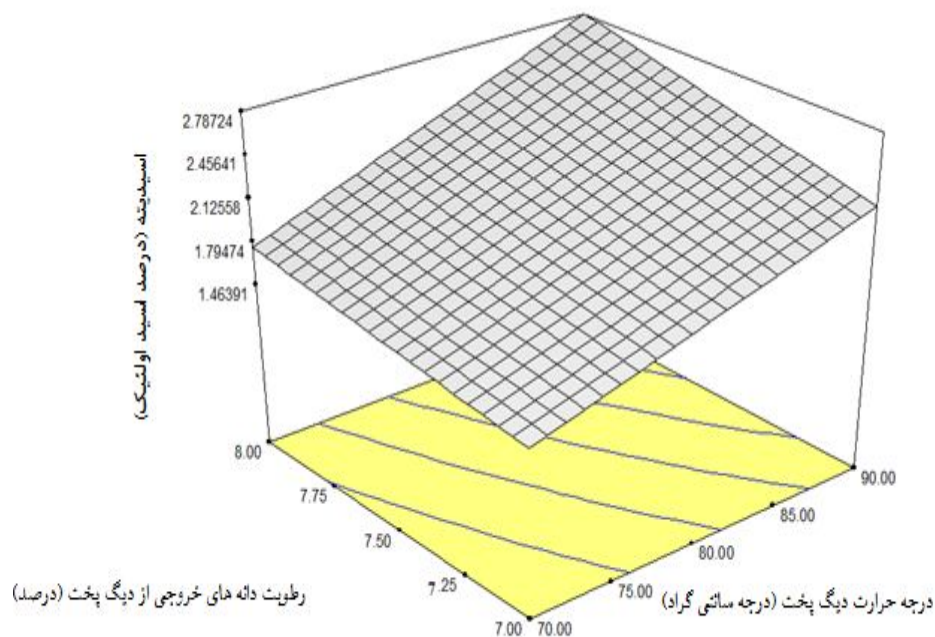
نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل اطلاعات آماری بیان گر معنی دار

آنزیم های لیپولیتیک درست در زیر پوسته نازک دانه واقع شده اند و در سلول های صدمه ندیده قادر نخواهند بود به چربی ها حمله کنند اما از آنجایی که دماهای بالا، باعث ایجاد تغییرات فیزیکی در سلول می شود این آنزیم ها فعالیت خود را آغاز می نمایند (Ghavami et al, 1983; Grosch et al, 2003). نتایج این بخش با نتایج Boselli و همکاران (۲۰۰۹) که بیان داشته بودند با افزایش درجه حرارت میزان اسیدیته روغن افزایش می یابد، مطابقت داشت.

همچنین کاهش درجه حرارت پخت، مقدار مواد ریز نامحلول در روغن کاهش یافت بگونه‌ای که بیشترین میزان مواد ریز نامحلول در روغن استخراجی از دانه‌هایی که دمای بکار رفته در مرحله پخت آنها، ۹۰ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ ۷ درصد بود، مشاهده شد. همچنین با بررسی روند تغییرات میزان مواد ریز نامحلول در روغن در برابر تغییرات رطوبت دانه خروجی از دیگ و دمای پخت، مدل شماره ۲ در جدول ۳ ارائه گردید که در آن بیشترین اثر بر میزان مواد ریز نامحلول در روغن به تغییرات خطی درجه حرارت دیگ پخت مربوط بود. نتایج این بخش با نتایج Rostami و همکاران (۲۰۱۴) کاملاً تطابق داشت.

بودن اثرات درجه حرارت پخت و رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت بر میزان مواد ریز نامحلول در روغن بود. نتایج نشان داد که با افزایش دمای پخت از ۷۰ به ۹۰ درجه سانتی‌گراد در مورد دانه‌های خروجی از دیگ که رطوبتی بین ۷ تا ۸ درصد داشتند، باعث افزایش میزان مواد ریز نامحلول در روغن به علت تخریب بیشتر دانه‌ها و ورود آنها به درون روغن شد.

همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، میزان مواد ریز نامحلول در روغن استحصال، در دانه‌های خروجی از دیگ که دارای رطوبت بیشتری بودند، کمتر از دانه‌های با رطوبت پایین‌تر بوده است. به عبارتی با افزایش رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت و

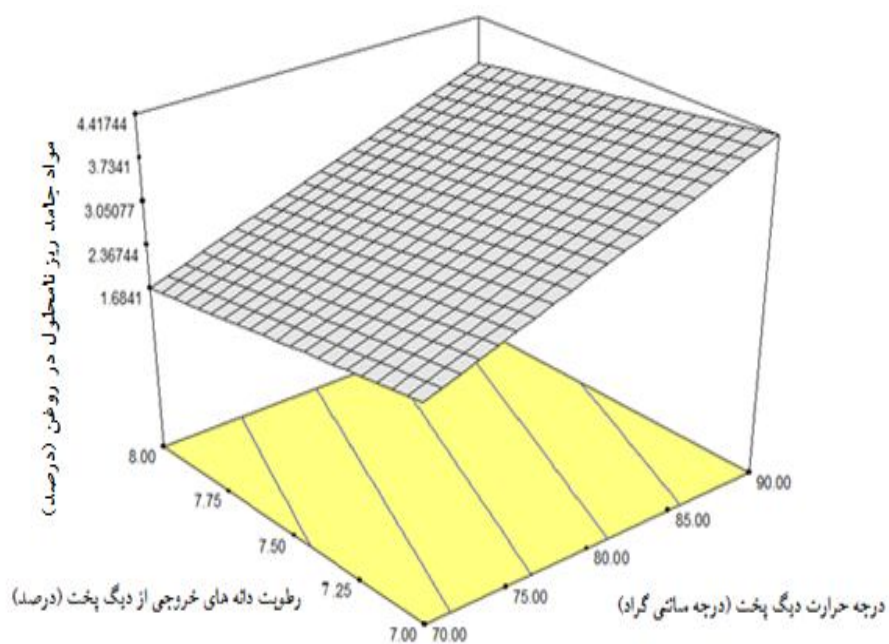


شکل ۱ - نمودار سه بعدی تغییرات میزان اسیدیتته روغن تحت تاثیر درجه حرارت پخت و میزان رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت دانشمندان را به منابع پروتئینی گیاهی خصوصاً دانه‌های روغنی، سبوس برنج، یونجه، نخود فرنگی، گردو و... معطوف داشته است (Ghodsvali *et al.*, 2005).

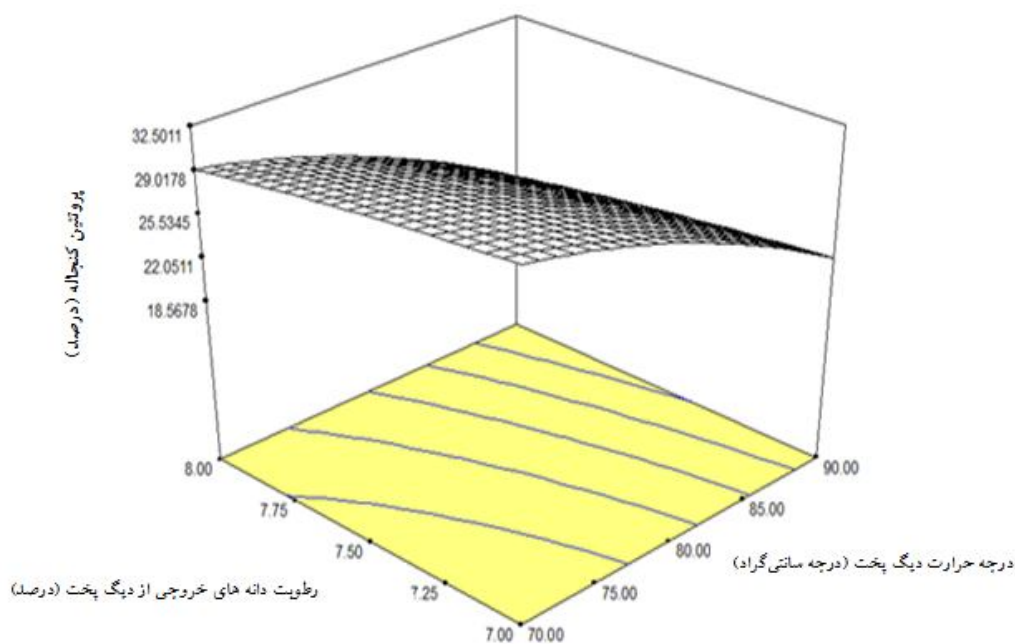
حرارت‌های دیگ پخت اثر کمتری بر روغن باقیمانده در کنجاله نهایی داشت بگونه‌ای که با افزایش میزان رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت میزان روغن در کنجاله‌ها به میزان بسیار جزئی کاهش یافت. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌گردد، افزایش درجه حرارت دیگ پخت در تمامی رطوبت‌های مورد مطالعه باعث کاهش چشمگیر و محسوس روغن کنجاله شده است. افزایش دما به علت کاهش ویسکوزیته حلال و همچنین افزایش انرژی جنبشی، نفوذ حلال را به داخل دانه‌ها افزایش می‌دهد و سرعت استخراج را بالا می‌برد. ۱

### بررسی روند تغییرات میزان پروتئین کنجاله

پروتئین و رطوبت دو فاکتور مهم مورد ارزیابی در هنگام خرید کنجاله‌های صنعتی در بازار می‌باشند. نتایج نشان داد که با افزایش درجه حرارت دیگ پخت، میزان پروتئین نهایی کنجاله کاهش یافت. افزایش رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت نیز منجر به کاهش میزان پروتئین کنجاله‌ها شد. در جدول ۳ (مدل ۳)، مدل نهایی ارائه شده برای میزان پروتئین کنجاله بدست آمده حاکی از اثرگذاری بیشتر متغیر خطی درجه حرارت دیگ پخت بود. رشد سریع جمعیت، محدودیت منابع تأمین موادغذایی و افزایش تقاضا برای منابع پروتئینی جدید و ارزان با خصوصیات عملکردی مطلوب، توجه

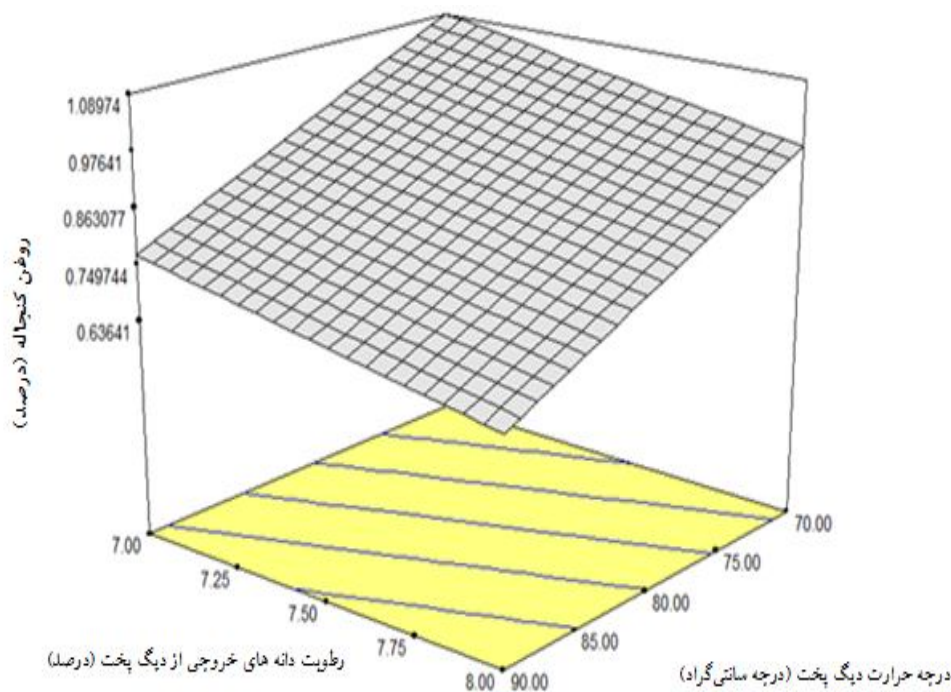


شکل ۲ - نمودار سه بعدی تغییرات میزان مواد ریز نامحلول در روغن تحت تاثیر درجه حرارت پخت و میزان رطوبت دانه های خروجی از دیگ پخت



شکل ۳ - نمودار سه بعدی تغییرات میزان پروتئین کنجاله تحت تاثیر درجه حرارت پخت و میزان رطوبت دانه های خروجی از دیگ پخت

موجود در کنجاله در شرایطی بدست آمد که میزان درجه حرارت دیگ پخت ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ ۷ درصد بود. مدل پیشنهادی برای میزان روغن باقیمانده در کنجاله در جدول ۳ ارائه شده است که در آن درجه حرارت دیگ پخت بصورت خطی بیشترین اثر را بر میزان روغن موجود در کنجاله به همراه داشت (جدول ۳).



شکل ۴ - نمودار سه بعدی تغییرات میزان روغن کنجاله تحت تاثیر درجه حرارت پخت و میزان رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت

نتایج رستمی و همکاران در سال ۱۳۹۴ بود که بیان داشته بودند افزایش دما در طول مرحله پخت، منتج به کاهش میزان رطوبت کنجاله می‌شود.

اطلاعات موجود در جدول ۳ نشان می‌دهد که مدل‌های بدست آمده و برازش داده شده برای هر کدام از متغیرهای اندازه‌گیری شده در شرایط مورد مطالعه به صورت دقیقی و با صحت بسیار بالایی، قابلیت برازش داده‌های مطالعه را دارا بودند. ضریب تغییرات پایین و ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده بالا همه نشانه‌هایی از برازش مناسب اطلاعات مورد مطالعه به وسیله مدل‌های ارائه شده می‌باشند (جدول ۳).

#### بهینه‌سازی فرآیند روغن‌گیری

به منظور یافتن بهترین شرایط استخراج روغن، با توجه به درجه

#### بررسی روند تغییرات میزان روغن کنجاله

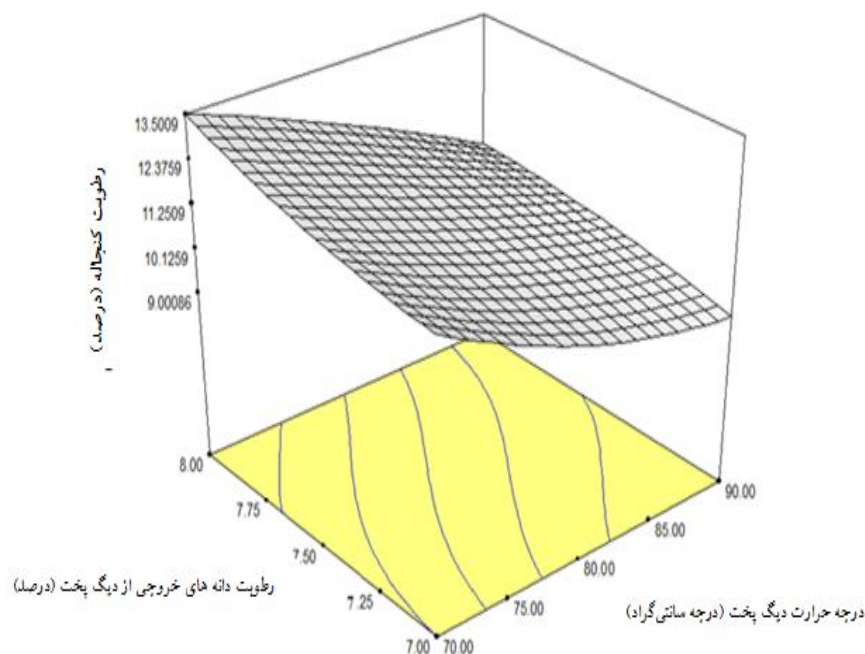
افزایش رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت در تمامی درجه افزایش دما ممکن است سبب باز شدن دیواره سلولی شود که نتیجه آن در دسترس بودن ترکیبات برای افزایش استخراج می‌باشد در نتیجه میزان بیشتری روغن از دانه گرفته شده و روغن کمتری در کنجاله باقی می‌ماند (Pan et al., 2000). بیشترین میزان روغن

#### بررسی روند تغییرات میزان رطوبت کنجاله

بررسی تغییرات رطوبت باقیمانده در کنجاله نشان داد که درجه حرارت دیگ پخت بیشترین اثرگذاری را بر میزان رطوبت کنجاله داشت و اثرگذاری آن از نوع منفی بود، بدین معنی که با افزایش درجه حرارت دیگ پخت، میزان رطوبت کنجاله نیز کاهش معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). با توجه به شکل ۵، با افزایش رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت از ۷ به ۸ درصد، رطوبت موجود در کنجاله به صورت معنی‌داری افزایش یافت. علت کاهش رطوبت دانه‌ها با افزایش درجه حرارت دیگ پخت را می‌توان به خروج بیشتر رطوبت در اثر افزایش دما نسبت داد. با توجه به اینکه برای رطوبت زدایی کنجاله به انرژی بیشتری در مراحل پایانی فرآیند نیاز است، کمترین میزان رطوبت کنجاله به اثر متقابل دمای ۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت دانه‌های خروجی ۷ درصد مربوط بود. نتایج این بخش موید

گردید. نتایج نشان داد که به منظور رسیدن به اهداف ذکر شده اعمال شرایط دمایی در حدود ۷۰ درجه سانتیگراد دیگ پخت و با رطوبت ۷/۷۳ یا ۷/۶۵ درصدی دانه‌های خروجی دیگ منجر به رسیدن به اهداف مورد نظر خواهد شد (جدول ۴).

حرارت دیگ پخت که در دامنه ۷۰ تا ۹۰ درجه سانتیگراد و رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت که بین ۷ تا ۸ درصد تنظیم می‌گردید، فرآیند استخراج روغن در شرایط ذکر شده به منظور رسیدن به حداقل میزان اسیدیته و مواد ریز نامحلول در روغن و همچنین روغن باقیمانده در کنجاله و میزان پروتئین حداکثری کنجاله بهینه یابی



شکل ۵ - نمودار سه بعدی تغییرات میزان روغن کنجاله تحت تاثیر درجه حرارت پخت و میزان رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت

جدول ۳- مدل‌های برازش داده شده برای پارامترهای مورد اندازه‌گیری

| ردیف | متغیر اندازه‌گیری شده           | مدل بدست آمده                                           | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> -adj | ضریب تغییرات |
|------|---------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------|---------------------|--------------|
| ۱    | اسیدیته روغن (درصد اسید اولئیک) | $y = 2.06 + 0.45x_1 + 0.21x_2 + 0.063x_1 \cdot x_2$     | ۰/۹۸۸          | ۰/۹۸۵               | ۲/۱۴         |
| ۲    | مواد ریز نامحلول در روغن (%)    | $y = 3.05 + 0.98x_1 - 0.38x_2$                          | ۰/۸۹           | ۰/۸۶                | ۹/۷۶         |
| ۳    | پروتئین کنجاله (%)              | $y = 27.23 - 5.30x_1 - 1.67x_2 - 1.40x_1^2 - 0.30x_2^2$ | ۰/۹۸۹          | ۰/۹۸۲               | ۲/۰۲         |
| ۴    | روغن کنجاله (%)                 | $y = 0.86 - 0.16x_1 - 0.06x_2$                          | ۰/۹۶۷          | ۰/۹۶                | ۲/۸۹         |
| ۵    | رطوبت کنجاله (%)                | $y = 11.02 - 1.55x_1 + 0.73x_2$                         | ۰/۹۷۴          | ۰/۹۷۰               | ۱/۹۴         |

جدول ۴- بهینه‌سازی استخراج در شرایط متفاوت عملیاتی فرآیند

| ردیف | درجه حرارت دیگ پخت (°C) | رطوبت دانه‌های خروجی از دیگ پخت (%) | اسیدیته روغن (%) | مواد ریز نامحلول در روغن (%) | پروتئین کنجاله (%) | روغن کنجاله (%) | رطوبت کنجاله (%) |
|------|-------------------------|-------------------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------|------------------|
| ۱    | ۷۰                      | ۷/۷۳                                | ۱/۶۷             | ۱/۸۹                         | ۳۰/۳               | ۰/۹۹            | ۱۲/۸۹            |
| ۲    | ۷۰                      | ۷/۶۵                                | ۱/۶۵             | ۱/۹۴                         | ۳۰/۵               | ۰/۹۹            | ۱۲/۱۱۹           |

- AOAC. 2008. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, Vol. II. Arlington, VA: *Association of Official Analytical Chemists*.
- AOCS. 1993. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, AOCS Press, *Champaign*, IL, 762p.
- Bagheri, A. 2014. Effect of nitrogen fertilizer and spraying oil on the qualitative and quantitative characteristics of sunflower. Master thesis of Agriculture, Faculty of Agriculture, and University of Zabol. 85 p. (in Persian).
- Bamgboye, A. and Adejumo, A. 2007. Development of a Sunflower Oil Expeller. *Agricultural Engineering International: the CIGR E journal*. Manuscript EE 06 015. Vol IX. September.
- Boselli, E., Di Lecce, G., Strabbioli, R., Pieralisi, G. and Frega, N. 2009. Are virgin olive oils obtained below 27°C better than those product at higher temperatures? *LWT- Food Science and Technology*. 49(3): 748-757.
- Ghavami, M. Gharachorloo, M. and Ezatpanah, H. 2003. Effect of frying on the oil quality properties used in the industry potato chips, *Journal of Agricultural and l Science*. 9(1): 1-15.
- Ghodsvali, A., Haddad Khodaparast, M. H., Vosoughi, M. and Diosady, L. L. 2005. Preparation of canola protein materials using membrane technology and evaluation of meals functional properties. *Food Research International*. 38: 223-231.
- Glaucia, S., Leila, M. and Miriam, D. 2012. Optimization of osmotic dehydration process of guavas by responsesurface methodology and desirability function, *International Journal of Food Science Technology*. 47: 132-140.
- Grosch, W., Laskawy, G. and Senser, F. 1983. Storage stability of roasted hazelnuts. *CCB Review for Chocolate, Confectionery and Bakery*. 8: 21-23.
- Gupta, R. K. and Prakash, S. 1992. The effect of seed moisture content on the physical properties of JSF-1 safflower. *Journal of Oilseeds Research*. 9: 209-216.
- Kazi, B.R., Oad, F.C., Jamro, G.H., Jamali, L.A. and Oad, N.L. 2002. Effect of water stress on the growth, yield and oil content of sunflower. *Pakistan Journal of Applied Sciences*. 2 (5): 550-552.
- Khajehpour, M. R. 2007. Production of industrial plants. Isfahan University of Jihad Publisher. 564 p. (in Persian).
- Kurki, A. L., Bachmann, J. and Holly, H. 2008. Oilseed Processing for Small-Scale Producers. A Publication of *ATTRANational Sustainable Agriculture Information Service*. Pages: 1-800-346-9140.
- Malek, F. 2001. Edible fats and vegetable oils. Farhang-o Ghlam Publication. Pp. 22-35. (in Persian)
- Manivannan, P. and Rajasimman, M. 2008. Osmotic dehydration of beetroot in salt solution: optimization of parameters through ststistical experimental design. *Internatiol journal of chemistry and Biological Engeeniring*. 1:41-46.
- Odabas, A.Z and Balaban, M.O. 2002. Supercritical CO2 extraction of sesame oil from raw seeds. *Journal of Food Science and Technology*. 39:496-501.
- Pan, X. J., Liu, H. Z., Jia, G. H. & Shu, Y.Y. 2000. Microwave-assisted extraction ofglycyrrhizic acid from licorice root. *Journal ofBiochemical Engineering*. 5: 173-177.
- Prior, E.M., Vadke, V. S. and Sosulski F.W. 1991. Effect of heat treatment on canola press oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 68: 407-411.
- Rostami, M., Farzaneh, V., Boujmehrani, A., Mohammadi, M. and Bakhshabadi, H. 2014. Optimizing the extraction process of sesame seeds oil using response surface method on the industrial scale. *Industrial Crops and Products*. 58: 160-165.
- Rostami, M., Estaki, M., Godsevali, A.R., Bojmehrani, A. and Bakhshabadi, H. 2015. Effect of Cooking temperature on some of oil and defatted seed quality characteristics of Rapeseed. *Journal of Innovation in Science and Technology*. 7 (1): 87-94. (in Persian).
- Savoire, R., Lanoiselle, J.L., Vorobiev, E., 2013. Mechanical continuous oil expression from oilseeds: a review. *Food Bioprocess Technol*. 6 (1): 1-16.
- Singh, P., Kumar, R., Sabapathy, S.N. and Bawa. S. 2008. Functional and edible uses of soy protein products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 7(1): 14-28.

## Optimizing the operating parameters of cooker during oil extraction and production of sunflower meal on an industrial scale

H. Bakhshabadi<sup>1\*</sup>, M. Rostami<sup>2</sup>, M. Moghimi<sup>3</sup>, A. Bojmehrani<sup>2</sup>, A.B. Bahalkeh<sup>4</sup>, N. Toorani<sup>4</sup>

Received: 2016.01.15

Accepted: 2016.06.05

**Introduction:** Using oilseeds in the human food stuffs, employing their meal for animal feed and also their usage in pharmaceuticals, soap making and fuel has prompted great interest for farmers to plant them and for the government to promote their cultivation. Among them, sunflower is one of the main oilseeds in the world which its cultivated area has expanded due to fair cultivation requirements, high yield of the oil, high nutritional value and also lack of anti nutritional factors. Sunflower (*Helianthus annuus*) is an annual plant belonging to Asteraceae family. This is a dicotyledonous, cross-pollinated monoecious plant that is fertilized by wind and insects. Sunflower seed oil has an excellent nutritional quality, as in recent years, cultivars with high oil (especially oleic acid) content have been substantially nurtured. The most different methods of extracting oil from oilseeds are the press and solvent methods. Similar to the other seeds with high oil content such as canola, the most effective way of extracting oil from sunflower is mechanical pressing followed by solvent extracting. In this method, the mechanical press extracts about 60 percent of the oil and the solvent method extracts the remaining oil. For the first time, the present study was aimed to improve temperature of cooker and moisture of output seeds for producing sunflower oil with lowest degree of insoluble fine partial in oil, moisture and acidity and meal with lowest levels of moisture and oil.

**Materials and Methods:** Sunflower seeds used in this research were supplied from one of Iran's provinces and were transferred to the company of Khorasan cotton and oilseeds to produce oil and meal. After receiving the sunflower seeds in the factory, they were entered into silos in dark and ambient temperature; impurities such as dust, sands, stones, spoiled seeds, small weed seeds and other extraneous materials were separated by mechanical sieves. After cleaning, the seeds were entered into the cracker and they were broken into smaller particles and then were moved into the cooker; at this stage, the temperature of cooker and moisture content of the exiting seeds were set to 70, 80 and 90°C, and 7, 7.5 and 8%, respectively. Then, conditioned seeds were entered into the Buhler flicker device for flaking. Afterwards, the flakes were moved into the Desmet extractor (heating condition of 500°C for 7 hours) to extract the oil from the seeds by hexane solvent. Then, the tests were performed on the oil and meal. Several physico-chemical properties of sunflower oil including insoluble fine partial, acidity values as well as moisture, protein and oil contents of the obtained meals were determined. Statistical analysis and process optimization were carried out using response surface methodology (RSM).

**Results and discussion:** The achieved results expressed that with an increase in cooking temperature, insoluble fine partial and oil acidity values of the extracted oil were boosted while moisture content of oil and meal values alongside oil content of the obtained meal showed reduction. With increasing of the moisture content of cooker's seeds, the insoluble fine partial value of the extracted oil was reduced while oil acidity value was increased. Increasing the moisture of cooker's seeds led to the oil reduction in the meal. The highest oil content in the meal was achieved in the condition that the cooker temperature was 70°C and the moisture of output seeds from the cooker was 7%. The analysis of resulted data showed that two parameters of the cooker's temperature and cooker's seeds moisture content had significant effects on the moisture content of the meal. Increasing the cooker temperature from 70 to 90°C caused a decrease in the meal moisture. As result shown, increasing the moisture content of output seeds from the cooker increased the moisture content of the meal. Increasing the cooker temperature from 70 to 90°C reduced the protein amount of the meals. Results of different

1- Ph.D. Student of Food Materials and Processing Design Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

2- Member of the Board of Khorasan cotton and oil seeds company.

3- Department of Chemistry, Gonbad Kavous Branch, Islamic Azad University, Gonbad Kavous, Iran

4- Young Researchers and Elites Club, Gonbad Kavous Branch, Islamic Azad University, Gonbad Kavous, Iran.

(\*Corresponding Author Email: h.bakhshabadi@yahoo.com)

studies showed that increasing the temperature will decrease the protein amount of the meals. Increasing the moisture was also resulted in the decrease of residual protein in the meal. The obtained results of the optimization procedure revealed that the application of the cooking temperature of 70 °C and moisture content of the output seeds equal 7.73 and 7.65 % led to achieving products with the least values of acidity and insoluble fine partial in the obtained oil as well as meals with the minimum remaining oil.

**Key words:** Cooker, Industrial scale, Operating parameters, Optimization, Sunflower oil

## ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و مکانیکی گاو دانه (*Vicia ervilia*) و بررسی خصوصیات عملکردی آرد حاصل از آن

مسعود تقی‌زاده<sup>۱\*</sup>، بهداد شکرالهی یانچشمه<sup>۲</sup>، فاطمه حامدی شهرکی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۱۱

### چکیده

با توجه به نیاز روز افزون بشر به منابع جدید پروتئینی و میزان بالای پروتئین در دانه گاو دانه، در این پژوهش خصوصیات فیزیکوشیمیایی و مکانیکی دانه گاو دانه و ویژگی‌های عملکردی آرد حاصل از آن، مورد ارزیابی قرار گرفت؛ همچنین اثر تغییرات pH بر تغییر در میزان حلالیت، ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری آن و ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری آن مورد بررسی قرار گرفت. متوسط طول، عرض و ارتفاع دانه‌ها به ترتیب ۳/۵۶۳۸، ۳/۶۱۹۷ و ۳/۸۳۶۵ میلی‌متر و میانگین حسابی و هندسی قطر، ضریب کرویت و سطح به ترتیب ۳/۶۷۳۳، ۲/۶۷۰۱ میلی‌متر، ۱/۰۳۱۸ و ۴۲/۴۰۵ میلی‌متر مربع بدست آمد. میانگین دانسیته واقعی، دانسیته توده و درصد تخلخل به ترتیب ۱۳۲۶/۶ کیلوگرم بر متر مکعب، ۰/۷۹۶۲ کیلوگرم بر متر مکعب و ۴۰/۲۷۵۳ درصد و متوسط ضرایب اصطکاک استاتیکی در سطوح تخته سه لایه، شیشه، لاستیک، فایبرگلاس و آهن گالوانیزه به ترتیب ۰/۴۳۴۴، ۰/۳۲۴۹ و ۰/۳۷۳۹ بود. آرد حاصل از این دانه دارای ۲۴ درصد پروتئین و ۹ درصد چربی بود و ظرفیت جذب آب و روغن، به ترتیب ۲/۰۱±۰/۰۱ و ۱/۷۷±۰/۰۳ (گرم آب یا روغن بر گرم نمونه) محاسبه شد. همچنین نتایج نشان داد تغییرات pH در محدوده ۳ تا ۹، میزان حلالیت، ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف و ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون آرد گاو دانه موثر بود.

**واژه‌های کلیدی:** گاو دانه، آرد، خواص مکانیکی، خواص عملکردی

### مقدمه

حبوبات یکی از مهم‌ترین منابع گیاهی غنی از پروتئین به‌شمار می‌آیند، که به دلیل برخورداری از مقادیر قابل توجهی از پروتئین مرغوب (۱۷ تا ۳۸ درصد) در دانه این محصولات، در ترکیب با غلات می‌توانند یک ترکیب زیستی ارزشمند غذایی را فراهم نمایند. این ترکیبات پروتئینی را می‌توان بصورت آرد، کنسانتره و یا ایزوله پروتئینی مورد استفاده قرار داد (اسدیپور و همکاران، ۱۳۸۹؛ Boye et al, 2010).

دانه گاو دانه (*Vicia ervilia*) با نام عمومی *Bitter vetch* دانه‌ای از خانواده حبوبات است که هنگام شکستن، ظاهری شبیه به عدس قرمز دارد (Farran et al, 1998). ارزش غذایی بالای این دانه، توانایی تثبیت نیتروژن خاک و توان رشد در خاک‌های کم‌عمق و قلیایی باعث شده است که این دانه همواره مورد توجه باشد (Belido, 1994). محتوای پروتئینی این دانه بیش از ۲۶/۶۵ درصد است (Sadeghi et al, 2004). با توجه به قابلیت تولید این محصول در ایران و دارا بودن درصد پروتئین بالا در این دانه، آردهای حاصل و فرآورده‌های پروتئینی آن می‌تواند از نظر ویژگی‌های عملکردی و قابلیت استفاده در صنعت غذا مورد ارزیابی قرار گیرد.

در قرن حاضر به دلیل افزایش ناموزون جمعیت بشری و نیز رشد محدود منابع حیوانی، بحث کمبود پروتئین بخصوص در جوامع در حال توسعه بیش از پیش شدت پیدا کرده است (Arogundade et al, 2004؛ Kanu et al, 2007) بطوری که بمنظور حفظ تغذیه جمعیت جهان در سطح کنونی، ملزم به افزایش مقدار تولید منابع پروتئینی گیاهی و حیوانی خواهیم بود. واضح است که افزایش در تولید پروتئین حیوانی به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه امکان‌پذیر نیست، بنابراین به علت کمبود منابع پروتئین حیوانی، تلاشی بی‌وقفه در جهت یافتن منابع جدید پروتئینی و برخورداری از هر دو ویژگی خواص عملکردی و ارزش تغذیه‌ای آنها صورت می‌گیرد (Kanu et al, 2007).

۱ و ۲- به ترتیب استادیار، دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

(\*) - نویسنده مسئول: (Email: mtaghizadeh@um.ac.ir)  
DOI: 10.22067/iftstr.v1395i0.57362

از رابطه مک کیب تعیین شد (جدول ۱). بمنظور تعیین جرم هزاردانه، ۱۰۰ دانه با ترازوی دیجیتال توزین شد و با ضرب کردن عدد حاصله در عدد ۱۰، جرم هزاردانه بدست آمد (Razavi and Fathi, 2009).

| جدول ۱- روابط تعیین برخی خواص فیزیکی |                              |
|--------------------------------------|------------------------------|
| ابعاد مورد اندازه‌گیری               | رابطه                        |
| میانگین قطر حسابی                    | $D_a = (l + w + h)/3$        |
| قطر هندسی                            | $D_g = (l * w * h)^{1/3}$    |
| ضریب کرویت                           | $\phi = \frac{lwh^{1/3}}{l}$ |
| مساحت                                | $S = \pi Dg^2$               |

### دانشیته حقیقی، دانشیته توده و درصد تخلخل

دانشیته واقعی به روش پیکنومتری، با استفاده از حلال تولوئن اندازه‌گیری شد. در این روش دانشیته واقعی با استفاده از رابطه (جدول ۲) محاسبه گردید که  $m$  جرم دانه‌های ریخته شده (kg) و  $V_t$  حجم مایع جابجا شده ( $m^3$ ) است (Razavi and Fathi, 2009).

جدول ۲- روابط مورد استفاده در محاسبه دانشیته و درصد تخلخل

| ابعاد مورد اندازه‌گیری | رابطه                                                                      |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| دانشیته واقعی          | $\rho_t = \frac{m}{V_t}$                                                   |
| دانشیته توده           | $\rho_b = \frac{m}{V_b}$                                                   |
| درصد تخلخل             | $\varepsilon = \left[ \frac{(\rho_t - \rho_b)}{\rho_t} \right] \times 100$ |

اندازه‌گیری دانشیته توده بر اساس روش (Razavi and Fathi, 2009) و درصد تخلخل دانه با استفاده از رابطه (Mohsenin, 1978) محاسبه شد که در آن  $\rho_t$  دانشیته واقعی و  $\rho_b$  دانشیته توده بود (جدول ۲).

### ضریب اصطکاک استاتیکی

از سطح شیب‌دار با شیب قابل تنظیم برای تعیین ضرایب اصطکاک استاتیکی استفاده شد. سطوح مختلفی از جنس ورق گالوانیزه، تخته سه‌لایه، شیشه، فایبرگلاس و لاستیک روی سطح شیب‌دار تعبیه شد و ضرایب اصطکاک استاتیکی با استفاده از زاویه سرخوردن ( $\alpha$ ) از رابطه (۱) محاسبه گردید (Razavi and Fathi, 2009).

$$\mu_s = \tan \alpha \quad (1)$$

### زاویه ریپوز تخلیه و پر کردن

زاویه ریپوز تخلیه با استفاده از یک جعبه چوبی به ابعاد

ویژگی عملکردی خصوصیات فیزیکوشیمیایی هستند که بر رفتار محصولات غذایی طی فرآوری، تولید، نگهداری و آماده‌سازی تأثیر می‌گذارند. از مهم‌ترین ویژگی‌های عملکردی می‌توان به ظرفیت جذب و نگهداری آب و روغن، حلالیت، ژلاتیناسیون، ویژگی‌های بین سطحی، تشکیل فیلم و کف‌کنندگی اشاره کرد (عامری شهرابی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Kaur and Singh, 2007).

علاوه بر اهمیت ویژگی‌های عملکردی، خواص فیزیکی مکانیکی دانه‌ها نیز در طراحی فرآیندهای پس از برداشت اهمیت ویژه‌ای دارند؛ به‌عنوان مثال تعیین ابعاد و شکل دانه‌ها در انتخاب مش مناسب الک در فرایندهای جداسازی، تعیین سطح و حجم دانه‌ها در محاسبات مربوط به خشک کردن، زاویه ریپوز و ضرایب اصطکاک دانه‌ها بر روی سطوح مختلف در طراحی سیلوها، مخازن نگهداری و تجهیزات انتقال از قبیل تسمه نقاله‌ها بکار می‌روند. مطالعات فراوانی جهت تعیین خواص فیزیکی محصولات مختلف از قبیل دانه‌های بالنگو و شاهی (محمدی مقدم و همکاران، ۱۳۸۷)، دانه بارهنگ (رضوی و همکاران، ۱۳۸۸)، ارقام مختلف برنج (Mir et al, 2013)، لوبیای چیتی (صادقی و همکاران، ۱۳۸۹)، نخود (گل‌پیرا و همکاران، ۱۳۸۸) و ۴ رقم اصلاح شده گندم ایرانی (رضوی و همکاران، ۱۳۸۵) انجام شده است.

با توجه به پتانسیل استفاده از این دانه به‌عنوان یک منبع پروتئینی جدید و شرایط بهینه استفاده از آن و عدم وجود تحقیقات در مورد آرد حاصله و ویژگی‌های عملکردی آن، تعیین خواص مکانیکی دانه و ویژگی‌های عملکردی آرد حاصل از آن ضروری به نظر می‌رسد.

## مواد و روش‌ها

### مواد

دانه گاوآنه به میزان لازم از بازار محلی شهرکرد تهیه شده و پس از تمیز کردن، مواد زائد و خارجی آن حذف شد و عمل پوست-گیری توسط پوست‌گیر دستی صورت پذیرفت. سپس توسط آسیاب به آرد تبدیل و از الک با مش ۳۰ عبور داده شد. آرد الک شده، تا مرحله بررسی خواص عملکردی در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید.

### بررسی خصوصیات فیزیکی دانه

#### اندازه‌گیری ابعاد و جرم هزاردانه

ابتدا ۱۰۰ دانه گاوآنه بطور تصادفی انتخاب و ابعاد آنها شامل طول ( $l$ )، عرض ( $w$ ) و ارتفاع ( $h$ ) توسط کولیس دیجیتال با دقت  $0.01$  سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. میانگین حسابی و هندسی قطر و ضریب کرویت با استفاده از رابطه محسین و مساحت سطح با استفاده

۱۰×۱۰×۱۰ سانتی متر اندازه گیری شد. این جعبه دارای درب کشویی در یکی از وجوه جانبی است. ابتدا جعبه با دانه پر شده و سپس درب کشویی به سرعت به طرف بالا کشیده می شود و دانه ها به بیرون جعبه تخلیه می شوند تا یک کپه درون جعبه تشکیل شود. زاویه ریپوز از طریق اندازه گیری ارتفاع و فاصله افقی در دو نقطه مشخص کپه و با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد.

$$\theta_e = \tan^{-1} \left( \frac{h_2 - h_1}{x_2 - x_1} \right) \quad (2)$$

$h_1$  و  $h_2$  ارتفاع در دو نقطه مشخص و  $x_1$  و  $x_2$  فاصله افقی بین این دو نقطه است.

زاویه ریپوز پر کردن با استفاده از یک قیف پلاستیکی که در ارتفاع ۱۵ سانتی متری سطح قرار گرفته بود اندازه گیری شد؛ به این ترتیب که دانه ها به آرامی از قیف به بیرون تخلیه می شوند و تشکیل یک کپه می دهند. ارتفاع در مرکز کپه (H) و قطر آن (D) اندازه گیری و در رابطه (۳) قرار گرفت:

$$\theta_f = \tan^{-1} \left( \frac{2H}{D} \right) \quad (3)$$

### تعیین ترکیب شیمیایی، شاخص های رنگی و خواص عملکردی آرد

به منظور تعیین ترکیبات شیمیایی، ترکیب شیمیایی (درصد رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر) نمونه ها (دانه گاودانه و آرد پوست گیری شده گاودانه) اندازه گیری شد (AACC, 2003). محاسبه میزان کربوهیدرات نیز از طریق کسر درصد کلیه ترکیبات از ۱۰۰ انجام شد. کلیه آزمون ها با دو تکرار انجام گرفتند.

### بررسی مولفه های رنگ

مولفه های رنگ ( $a^*$ ،  $L^*$  و  $b^*$ ) نمونه های آرد گاودانه پیش و پس از پوست گیری با استفاده از رنگ سنج دیجیتال (مدل CR-410، ژاپن) تعیین شدند. مولفه  $L^*$  بیانگر درجه روشنی نمونه است که می تواند مقادیر ۰ تا ۱۰۰ را به خود اختصاص دهد. مولفه  $a^*$  گستره رنگ سبز (مقادیر منفی) تا رنگ قرمز (مقادیر مثبت) و مولفه  $b^*$  نیز گستره رنگ آبی (مقادیر منفی) تا رنگ زرد (مقادیر مثبت) را در بر می گیرد، کالبراسیون اولیه دستگاه با استفاده از کاشی سفید استاندارد صورت پذیرفت و به منظور بررسی مولفه های رنگ، نمونه ها در یک پلیت پلاستیکی با قطر ۵۸ میلی متر و عمق ۱۵ میلی متر قرار گرفتند.

### حالات پروتئین

میزان حالات پروتئین آرد حاصله در مقادیر pH بین ۳ تا ۱۰ با استفاده از روش بیورت تعیین شد (Owusu-Apenten, 2002). ابتدا محلول ۱/۵ درصد آرد دیونیزه تهیه گردید و به منظور بررسی اثر تغییرات pH، تنظیم pH به کمک اسید کلریدریک و یا هیدروکسید

سدیم ۰/۵ مولار صورت گرفت. محلول به مدت ۳۰ دقیقه به کمک همزن مغناطیسی، در دمای اتاق هم زده شد. نمونه ها در  $500 \times g$  به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید تا فاز معلق جدا شود. میزان پروتئین موجود در فاز معلق، با استفاده از روش بیورت از طریق مخلوط کردن ۱ میلی لیتر از نمونه با ۴ میلی لیتر معرف بیورت و سپس ۲۰ دقیقه قرار دادن در دمای اتاق و به کمک اسپکتروفتومتر (مدل یو وی ۲۶۰۱، شرکت رای لی چین) تعیین گردید. جذب نمونه ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری شد. منحنی کالبراسیون با استفاده از محلول سرم آلبومین گاوی<sup>۱</sup>، در غلظت های صفر تا ۱۰ (میلی گرم/ میلی لیتر) در معرف بیورت با نسبت ۱ به ۴ رسم گردید.

### ظرفیت جذب آب و روغن

برای اندازه گیری ظرفیت جذب آب<sup>۲</sup> و روغن<sup>۳</sup> آرد از روش Kaur and Singh (2007) با اندکی تغییرات استفاده شد؛ یک گرم آرد داخل یک فالدکون توزین شد و ۱۰ میلی لیتر روغن آفتابگردان یا آب مقطر به آرد اضافه گردید و به مدت ۲ دقیقه با استفاده از ورتکس (به سان، ایران) مخلوط شد. نمونه ها پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت  $3000 \times g$  سانتریفوژ شدند. بخش مایع فوقانی دور ریخته شد و نمونه ها مجدداً توزین شدند. ظرفیت پیوند با آب و چربی بصورت گرم آب و یا روغن جذب شده به ازای یک گرم آرد و بر حسب درصد گزارش گردید.

### ظرفیت کف کنندگی و پایداری کف

ظرفیت کف کنندگی با تهیه محلول ۲ درصد آرد در آب مقطر و بر اساس روش Adebawale و همکاران (۲۰۰۵) تعیین شد. به منظور بررسی اثر تغییرات pH بر ظرفیت کف کنندگی آرد، pH محلول با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال و یا هیدروکسید سدیم ۰/۵ مولار، در مقادیر ۳، ۴/۵، ۶ و ۹ تنظیم شد. محلول حاصل در pH مورد نظر به مدت ۵ دقیقه توسط همزن مغناطیسی با دور ۳۶۰ rpm هم زده شد و سپس به فالدکون یا استوانه مدرج منتقل گردید تا حجم محلول قبل از هم زدن اندازه گیری شود ( $V_0$ ). محلول به مدت ۲ دقیقه با دستگاه اولتراتوراکس (مدلتی ۲۵ دیجیتال، شرکت آیکای آلمان) با دور ۱۰۰۰۰ rpm هم زده شد و بلافاصله ارتفاع کف ثبت شد ( $V_1$ ). میزان ظرفیت کف کنندگی با استفاده از رابطه (۴) محاسبه گردید:

$$(V_1/V_0) \times 100 = \text{درصد ظرفیت کف کنندگی} \quad (4)$$

پایداری کف، بصورت میزان کاهش حجم کف پس از ۳۰، ۶۰

1Bovine serum albumin (BSA)

2Water absorbtion capacity

3Oil absorbtion capacity

ترتیب پایداری امولسیون در هر pH اندازه‌گیری شد.  
 (۷)  $100 \times (\text{ارتفاع لایه امولسیون قبل از حرارت} / \text{ارتفاع لایه امولسیفیه بعد از حرارت}) = \text{درصد پایداری امولسیون}$

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

کلیه آزمون‌ها در دو تکرار انجام گرفتند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به‌منظور بررسی اثر تغییرات pH بر خواص عملکردی آرد با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  صورت گرفت. نتایج به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) تجزیه و تحلیل شدند و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل (Excel, 2007) استفاده شد.

### نتایج و بحث:

#### خصوصیات فیزیکی دانه

نتایج اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و مکانیکی در جدول ۳ گزارش شده است.



شکل ۱- تصویر دانه گاودانه

جدول ۳- خصوصیات فیزیکی و مکانیکی دانه گاودانه.

| ویژگی                              | تعداد تکرار | میانگین  | انحراف معیار |
|------------------------------------|-------------|----------|--------------|
| طول (میلی‌متر)                     | ۱۰۰         | ۳/۵۶۴    | ۰/۲۲۳        |
| عرض (میلی‌متر)                     | ۱۰۰         | ۳/۶۲۰    | ۰/۱۸۵        |
| ارتفاع (میلی‌متر)                  | ۱۰۰         | ۳/۸۳۶    | ۰/۲۲۲        |
| میانگین حسابی قطر (میلی‌متر)       | ۱۰۰         | ۳/۶۷۳    | ۰/۱۸۴        |
| میانگین هندسی قطر (میلی‌متر)       | ۱۰۰         | ۳/۶۷۰    | ۰/۲۲۲        |
| ضریب کرویت                         | ۱۰۰         | ۱/۰۳۲    | ۰/۰۳۳        |
| سطح (میلی‌متر مربع)                | ۱۰۰         | ۴۲/۴۰۵   | ۴/۴۱۵        |
| جرم هزار دانه (گرم)                | ۳           | ۳۸/۶۹۶   | ۳/۸۶۵        |
| دانسیته حقیقی (کیلوگرم بر مترمکعب) | ۳           | ۱۳۲۶/۶۰۰ | ۰/۰۰۹        |
| دانسیته توده (کیلوگرم بر مترمکعب)  | ۳           | ۷۹۶/۲۶۰  | ۰/۰۰۹        |
| تخلخل (درصد)                       | ۳           | ۴۰/۲۷۵   | ۰/۶۸۰        |
| ضریب اصطکاک استاتیکی تخته سه لایه  | ۳           | ۰/۴۳۵    | ۰/۰۰۳        |
| ضریب اصطکاک استاتیکی شیشه          | ۳           | ۰/۱۹۴    | ۰/۰۰۳        |
| ضریب اصطکاک استاتیکی لاستیک        | ۳           | ۰/۴۲۴    | ۰/۰۰۳        |
| ضریب اصطکاک استاتیکی فایبرگلاس     | ۳           | ۰/۳۲۵    | ۰/۰۰۳        |
| ضریب اصطکاک استاتیکی ورق گالوانیزه | ۳           | ۰/۳۷۴    | ۰/۰۰۳        |
| زاویه ریپوز تخلیه (درجه)           | ۳           | ۳۳/۹۲۰   | ۰/۳۹۸        |
| زاویه ریپوز پر کردن (درجه)         | ۳           | ۱۹/۲۴۱   | ۴/۹۰۴        |

و ۹۰ دقیقه مخلوط کردن بررسی شد. برای این منظور حجم کف باقیمانده در زمان مورد نظر ( $V_2$ ) ثبت گردید و پایداری کف با استفاده از رابطه (۵) محاسبه شد:

$$(5) \quad 100 \times (V_2 / V_1) = \text{درصد پایداری کف}$$

### ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون

ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون به‌روش مجذوبی و همکاران (۲۰۱۲) با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد؛ برای این منظور محلول ۲ درصد آرد در آب تهیه گردید و سپس به‌منظور بررسی اثر تغییرات pH بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی آرد، pH در مقادیر ۳، ۴/۵، ۶ و ۹ با استفاده از اسیدکلریدریک و یا سود ۰/۵ مولار تنظیم شد. پس از آن ۵ میلی‌لیتر روغن آفتابگردان به محلول اضافه گردید و محلول حاصل در pH مورد نظر به مدت ۳ دقیقه با استفاده از دستگاه اولتراسونیک (مدل ۲۵ دیجیتال، آلمان) با دور ۱۰۰۰۰ rpm هموژن و ارتفاع کل محتویات امولسیون شده ثبت شد ( $H_0$ ). امولسیون حاصل در  $1100 \times g$  به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد و دوباره ارتفاع لایه امولسیون باقیمانده ثبت شد ( $H_1$ ). ظرفیت امولسیون‌کنندگی (EC) با استفاده از رابطه (۶) محاسبه گردید.

$$(6) \quad 100 \times (H_1 / H_0) = \text{درصد ظرفیت امولسیون‌کنندگی}$$

همچنین برای محاسبه پایداری امولسیون، نمونه‌ها پس از هم‌زدن با اولتراسونیک و قبل از سانتریفوژ طی مدت زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بدین

متر مکعب و ۳۹/۸۷۹-۴۱/۰۶۰ درصد بودند که میانگین دانسیته حقیقی مشابه با ماشک ولی دانسیته توده ماشک کمی بزرگتر بود. همچنین درصد تخلخل ماشک کمتر از گاو دانه بود (Yal-cin and OOzarslan, 2004).

همان طور که در جدول ۱ مشاهده می شود بیشترین میانگین ضریب اصطکاک استاتیکی مربوط به تخته سه لایه (۰/۰±۴۳۵/۰۰۳) و بعد از آن لاستیک (۰/۰±۴۲۴/۰۰۳) بود که مشخص می کند که این سطوح برای انتقال مناسب نیستند. شیشه کمترین ضریب اصطکاک استاتیکی در بین ۵ سطح دارا بود (۰/۰±۱۹۴/۰۰۳). ضریب اصطکاک استاتیکی لاستیک و آهن گالوانیزه در مورد گاو دانه بیشتر از دانه ماشک بود (Yal-cin and OOzarslan, 2004). ضریب اصطکاک محصولات کشاورزی عمدتاً به خصوصیات ماده غذایی شامل مقدار رطوبت، ویژگی های سطحی ماده غذایی و سطحی که روی آن حرکت می کند و سرعت لغزش بستگی دارد (رضوی و اکبری، ۱۳۹۱). زاویه ریپوز تخلیه و پر کردن به ترتیب در دامنه ۳۳/۳۸ - ۳۳/۶۰ تا و ۱۶/۵۵۸-۲۶/۵۸۲ قرار داشتند، که از مقادیر مشابه برای نخود بزرگتر بود (گل پیرا و همکاران، ۱۳۸۸).

#### ترکیب شیمیایی

ترکیب شیمیایی آرد گاو دانه در جدول ۴ و سایر آردها در جدول ۵ نشان داده شده است. مقدار پوسته دانه گاو دانه ۱۱/۰۵۶±۱/۴۸ درصد محاسبه شد.

طول، عرض و ارتفاع دانه ها به ترتیب در دامنه ۳/۱۱ تا ۳/۱۶، ۴/۳۴ تا ۴/۳۲ و ۴/۹۸ میلی متر بود و همان طور که در جدول ۳ مشاهده می شود طول، عرض و ارتفاع میانگین گاو دانه به ترتیب ۳/۲۲۳±۰/۵۶۴، ۳/۱۸۵±۰/۶۲۰ و ۳/۲۲۲±۰/۸۳۶ میلی متر بدست آمد که در مقایسه با لوبیای چیتی در سه سطح رطوبتی ۸، ۱۲ و ۱۶ درصد کوچکتر است (صادقی و همکاران، ۱۳۸۹) و نیز میانگین طول و عرض گاو دانه ها کمتر از ماشک ولی ارتفاع گاو دانه بیشتر از ضخامت ماشک گزارش شد (Yal-cin and OOzarslan, 2004). قطر حسابی در دامنه ۳/۳۳۸ تا ۴/۴۷۳ و قطر هندسی در دامنه ۳/۳۴۳ تا ۴/۴۸۷ میلی متر گزارش شد که از مقادیر مشابه در مورد لوبیای چیتی (صادقی و همکاران، ۱۳۸۹) کمتر بود. سطح دانه ها در دامنه ۳۴/۹۹۱ تا ۶۲/۸۱۷ متر مربع اندازه گیری شد که میانگین مقادیر از دانه های ماشک در سطوح رطوبتی ۱۰/۵۷ تا ۲۰/۶۳ درصد بزرگتر بود (Yal-cin and OOzarslan, 2004). ضریب کرویت گاو دانه در دامنه ۱/۰۷۰-۱/۰۷۳ بود که میانگین آن (۱/۰±۰۳۲/۰۳۳) بزرگتر از همین مقدار برای لوبیای چیتی (صادقی و همکاران، ۱۳۸۹) و ماشک (Yal-cin and OOzarslan, 2004) بود. جرم هزار دانه بین ۳۴/۸۶۵ تا ۴۲/۵۹۵ گرم و میانگین آن ۳۸/۶۹۶±۳/۸۶۵ گرم گزارش شد که از مقادیر مشابه در مورد ماشک در رطوبت های ۱۰/۵۷ تا ۲۰/۶۳ درصد کمتر بود (Yal-cin and OOzarslan, 2004).

دانسیته حقیقی، دانسیته توده و تخلخل به ترتیب در دامنه ۱۳۲۲/۸-۱۳۳۱ کیلو گرم بر متر مکعب، ۰/۸۰۲-۰/۷۸۶ کیلو گرم بر

جدول ۴- درصد ترکیبات شیمیایی آرد گاو دانه بر مبنای وزن خشک\*\*

| نوع آرد        | پروتئین    | رطوبت      | چربی       | خاکستر    | کربوهیدرات |
|----------------|------------|------------|------------|-----------|------------|
| آرد بدون پوسته | ۲۶/۰±۹۸/۱۶ | ۱۰/۰±۵۳/۱۲ | ۱۰/۰±۱۲/۲۴ | ۳/۰±۳۳/۱۶ | ۶۱/۰±۴۸/۴۶ |
| آرد با پوسته   | ۰±۲۶/۲۰    | ۹/۰±۳۷/۳۲  | ۹/۰±۹۵/۴۶  | ۳/۰±۲۰/۱۲ | ۶۰/۰±۳۲/۵۴ |

\* میانگین ۲ تکرار ± انحراف معیار

\*\* درصد پروتئین، چربی، خاکستر و کربوهیدرات بر مبنای وزن خشک محاسبه شد

جدول ۵- درصد ترکیبات شیمیایی آردهای مختلف بر مبنای وزن مرطوب

| نوع آرد             | پروتئین   | رطوبت | چربی      | خاکستر    | کربوهیدرات | منبع                   |
|---------------------|-----------|-------|-----------|-----------|------------|------------------------|
| دانه نخود سبز فرنگی | ۲۵/۰±۶/۸۴ | —     | ۱/۰±۸۶/۰۹ | ۳/۰±۱۰/۱۸ | —          | Kaur and Singh, 2007   |
| لوبیای سودانی       | ۰±۲۴/۶۷   | —     | ۰/۰±۸۷/۰۸ | ۳/۰±۳۱/۱۹ | —          | Kaur and Singh, 2007   |
| آرد عدس             | ۳۸/۹۸     | ۸/۳۰  | ۲/۴۳      | ۲/۹۵      | —          | اسدپور و همکاران، ۱۳۹۰ |
| سویا چربی گیری شده  | ۵۵/۵      | ۸/۸   | ۰/۹       | ۷         | ۲۷/۸       | Sosulski et al, 1976   |
| آرد نخود            | ۴۳/۴۳     | ۵/۱۱  | ۵/۱۷      | ۳/۱۰      | —          | اسدپور و همکاران، ۱۳۹۰ |
| آرد لوبیا قرمز      | ۳۲/۷۰     | ۸/۱۰  | ۱/۶۰      | ۴/۰۸      | —          | اسدپور و همکاران، ۱۳۹۰ |

\* میانگین ۲ تکرار ± انحراف معیار

(L) مشابه آرد نخود و سویا بوده، از آرد شنبلیله روشن‌تر اما از آرد عدس درجه روشنایی کمتری داشت. از نظر پارامتر  $a^*$  آرد حاصل از این دانه دارای رنگ قرمز و مشابه مقدار گزارش شده برای آرد نخود بود که با توجه به ظاهر قرمز رنگ مغز دانه دور از انتظار نیست. از نظر پارامتر  $b^*$  نیز دارای رنگ زرد مشابه مقادیر گزارش شده برای آرد نخود و سویا بود. می‌توان دلیل این تفاوت‌ها را در بین آردهای مختلف به میزان و نوع ترکیبات تشکیل‌دهنده و همین‌طور نوع رنگدانه‌های موجود در این آردها نسبت داد. آردهایی که تا حدی باعث ایجاد رنگ قهوه‌ای شوند به‌منظور کاربرد در نان‌ها و پنکک‌ها مطلوب می‌باشند و آردهایی که به بی‌رنگ شدن محصول کمک کنند در برخی نان‌ها قابل کاربرد هستند (فیضی و همکاران، ۱۳۹۲). بر این اساس می‌توان از آرد گاودانه در برخی نان‌ها که رنگ روشن‌تری در آنها مطلوب است، استفاده نمود.

جدول ۷- پارامترهای رنگ آردهای مختلف

| نمونه       | پارامتر رنگ |       |       | منبع                            |
|-------------|-------------|-------|-------|---------------------------------|
|             | L*          | a*    | b*    |                                 |
| آرد عدس     | ۹۱/۴        | -۱/۱۵ | ۸/۴   | شکرالهی یانچشمه و همکاران، ۱۳۹۲ |
| آرد شنبلیله | ۷۸/۹۱       | -۱/۰۷ | ۲۹/۸۳ | فیضی و همکاران، ۱۳۹۲            |
| آرد سویا    | ۸۷/۲۶       | -۰/۳۳ | ۲۲/۸۱ | فیضی و همکاران، ۱۳۹۲            |
| آرد نخود    | ۸۶/۳۸       | ۲/۹۶  | ۱۹/۸۷ | Joshi <i>et al</i> , 2015       |

### حلالیت پروتئین

حلالیت پروتئین به عنوان اولین شاخص اندازه‌گیری ویژگی‌های عملکردی پروتئین‌ها مطرح است (اسدپور و همکاران، ۱۳۸۹) و به خواص پروتئین و حلال، pH، غلظت و بار الکتریکی یون‌های دیگر و دما بستگی دارد (Vadivel and Janardhanan, 2001). همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود حلالیت پروتئین آرد مورد بررسی در این پژوهش، کاملاً وابسته به تغییرات pH می‌باشد. در این بررسی شاهد روند U شکل پروفایل حلالیت در محدوده pH ۱۲-۲ و گستره وسیعی از حلالیت در این دامنه بودیم. بیشترین میزان حلالیت پروتئین (۱۵/۶۲۲ mg/ml) در pH معادل ۱۲ و کمترین میزان حلالیت (۱/۰۴۱ mg/ml) در pH=۴/۵ مشاهده شد. pH=۴/۵ نقطه حداقل حلالیت پروتئین‌های موجود بود (شکل ۲). pH بین ۴-۵ در اکثر منابع نقطه حداقل حلالیت گزارش شده است و از طرفی مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که پروتئین‌ها دارای حداقل حلالیت در ناحیه ایزوالکتریک می‌باشند (Adebowale et al, 2005؛ Sathe and Salunkhe, 1981). بنابراین pH=۴/۵ را می‌توان به‌عنوان نقطه ایزوالکتریک پروتئین آردهای موجود در نظر گرفت. نکته قابل توجه در نمودار که با نتایج اکثر مطالعات مطابقت دارد، افزایش مقدار پروتئین محلول با کاهش pH از نقطه ایزوالکتریک به سمت pH

مقدار درصد پروتئین در آرد گاودانه (۲۶/۰±۹۸/۱۶) محاسبه شد که با توجه به مقدار بالای پروتئین، آرد حاصل و فراورده‌های پروتئینی آن می‌توانند به عنوان جایگزین پروتئین‌های حیوانی مطرح باشند. همان‌طور که در جدول‌های ۴ و ۵ مشاهده می‌شود، این مقدار کمتر از مقادیر درصد پروتئین در آرد دانه‌های نخود، لوبیای چیتی، عدس و لوبیای قرمز (اسدپور و همکاران، ۱۳۸۹) و بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط Kaur و همکاران (۲۰۰۷) برای آرد نخود فرنگی و لوبیای سودانی بود. همچنین مقدار درصد چربی در دانه گاودانه بیشتر از مقادیر گزارش شده برای این دانه‌ها در نتایج اسدپور و همکاران (۱۳۸۹) بود. البته نقش کیفیت پروتئین در ویژگی‌های عملکردی بالاتر از کمیت آن است و میزان بالای پروتئین دلیل بر بهتر بودن ویژگی‌های عملکردی آن نیست بلکه به سایر ترکیبات موجود در نمونه نظیر چربی، کربوهیدرات و غیره نیز وابسته است. علاوه بر این کیفیت و آرایش فضایی پروتئین و میزان اسیدهای آمینه آب‌دوست و آب‌گریز از شاخص‌های اصلی در تعیین ویژگی‌های عملکردی می‌باشند (اسدپور و همکاران، ۱۳۹۰؛ Boye et al, 2010).

### بررسی پارامترهای رنگ

یکی از پارامترهای مهم در مورد آرد و فراورده‌های پروتئینی نظیر کنسارته و ایزوله پروتئینی، رنگ آنها می‌باشد. پارامتر  $L^*$  نشان‌دهنده درجه روشنی می‌باشد و مقادیر ۰ تا ۱۰۰ را می‌تواند به خود اختصاص دهد، هر قدر میزان  $L^*$  بیشتر باشد نشان‌دهنده روشن‌تر بودن رنگ است (Kaur and Singh Sandha, 2010).

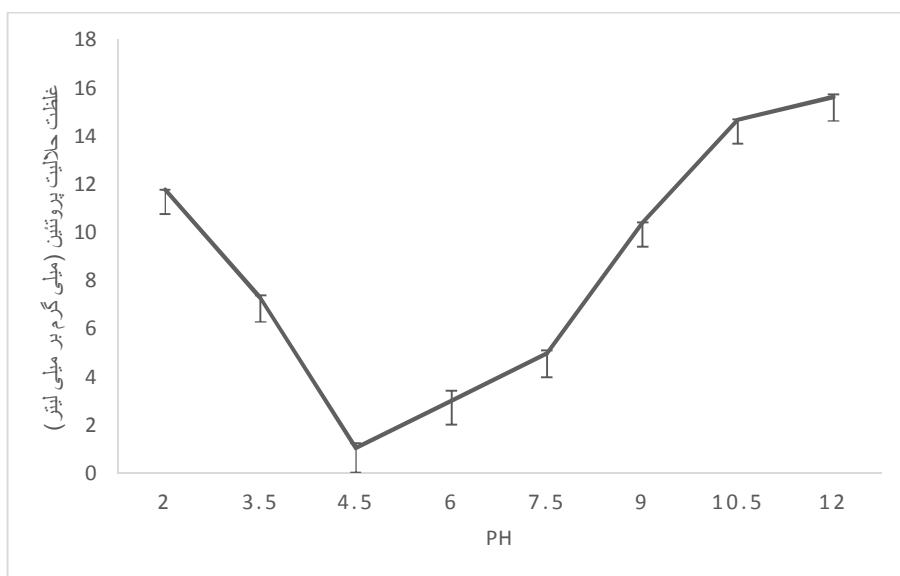
جدول ۶- پارامترهای رنگ آرد گاودانه

| نمونه                  | پارامتر رنگ              | $L^*$                    | $a^*$                    | $b^*$ |
|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|
| آرد گاودانه بدون پوسته | ۸۸/۲±۲۸/۴۸ <sup>a</sup>  | ۲/۱۲ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup> | ۲۲/۲±۲۱/۴۰ <sup>a</sup>  |       |
| آرد گاودانه با پوسته   | ۸۲/۵±۵۸/۱۶۶ <sup>b</sup> | ۱/۷۱ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup> | ۲۱/±۲۲ ۱/۸۶ <sup>b</sup> |       |

با توجه به مقادیر گزارش شده در جدول ۶ مولفه  $L^*$  آرد بدون پوسته بیشتر است که نشان‌دهنده روشن‌تر بودن این آرد در صورت حذف پوسته می‌باشد. پوسته دانه‌ها حاوی قسمت عمده خاکستر و رنگدانه‌ها می‌باشند که با حذف این قسمت رنگ آرد روشن‌تر می‌شود. همچنین با حذف پوسته دانه‌ها مولفه‌های  $a^*$  و  $b^*$  آرد تغییر می‌کند، زیرا پوسته دانه رنگ مایل به قهوه‌ای دارد و حذف پوسته سبب مشخص‌تر شدن رنگ زرد و نارنجی بخش‌های داخلی دانه می‌گردد. در جدول ۷ مولفه‌های رنگی آرد برخی دانه‌ها گزارش شده است که با مقایسه نتایج حاصل از این پژوهش با مقادیر گزارش شده می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که آرد گاودانه بدون پوسته از نظر روشنایی

افزایش گروه‌های هیدروفیل در سطح پروتئین مؤثرتر از pHهای اسیدی عمل کرده‌اند. این یافته‌ها مشابه نتایج بیان شده توسط محققان مختلف است (اسدپور و همکاران، ۱۳۸۹؛ فیضی و همکاران، Kaur and Lawal, 2004; Kaur and Singh, 2007; Singh Sandha, 2010).

اسیدی است، البته حلالیت در محدوده pH قلیایی بالاتر از اسیدی بود. با افزایش یا کاهش pH از نقطه‌ی ایزوالکتریک، دافعه الکترواستاتیک زیاد شده و در نتیجه حلالیت افزایش می‌یابد. همچنین در این حالت میزان زنجیره‌های جانبی آب‌گریز کاهش یافته و آب‌گیری یونی به‌ویژه در مقادیر بالاتر pH افزایش می‌یابد (Damodaran, 1996). در مورد آردها احتمالاً pHهای قلیایی در



شکل ۲- مقادیر پروتئین محلول آرد گاو دانه در مقادیر مختلف pH

بر گرم آرد عنوان کردند. در جدول ۸ مقادیر جذب آب در آرد دانه‌های مختلف قابل مشاهده است. همانطور که از جدول مشاهده می‌شود، مقدار جذب آب بدست آمده برای آرد دانه گاو دانه از آرد مرما، شنبليله، نخود و عدس، اما از آرد سویا کمتر است که این نشان‌دهنده قابلیت مناسب استفاده از آرد گاو دانه می‌باشد. این تفاوت را می‌توان به تفاوت در درصد متفاوت ترکیبات تشکیل‌دهنده آرد و احتمالاً تفاوت در نوع اسیدهای آمینه نسبت داد.

جذب روغن یک پدیده‌ی فیزیکی است که تحت عنوان محبوس شدن فیزیکی روغن تعریف می‌شود و آن را به زنجیره‌های غیرقطبی پروتئین و همچنین به شکل فضایی پروتئین نسبت می‌دهند (Traynham et al, 2007; Kinsella, 1979). بالا بودن ظرفیت جذب روغن پارامتر مهمی است که به قابلیت نگهداری عطر و طعم در مواد غذایی و بهبود خصوصیات امولسیون‌کنندگی کمک می‌کند (Kinsella, 1979). ظرفیت جذب روغن آرد بدون پوسته گاو دانه  $1.77 \pm 0.3$  گرم آب بر گرم آرد بدست آمد. این میزان از مقادیر گزارش شده توسط رواقی و همکاران (۱۳۸۹) برای آردهای سویا با درصد چربی مختلف ( $1/30 - 1/09$ )

### ظرفیت جذب آب و روغن

ظرفیت جذب آب، بیانگر توانایی اجزا در تجمع و گیرانداختن مولکول آب در شرایطی است که محدودیت میزان آب وجود دارد. این ویژگی عملکردی به ترکیب اسیدهای آمینه، آرایش فضایی پروتئین، میزان آب‌دوستی و آب‌گریزی پروتئین، حضور کربوهیدرات‌های آب‌دوست و فیبر خام بستگی دارد (Seena; Sikorski, 2002; Wu et al, 2009; Yu et al, 2007; and Sridhar, 2005). همچنین جذب آب با افزایش میزان چربی در نمونه کاهش می‌یابد، زیرا وجود چربی باعث پوشاندن مکان‌های قابل اتصال با آب و کاهش بخش‌های در دسترس برای اتصال گروه‌های هیدروفیل با آب می‌شود (Adebawal et al, 2005; Heywood et al, 2002).

در این پژوهش قابلیت جذب آب آرد بدون پوسته گاو دانه به میزان  $2.01 \pm 0.1$  گرم آب بر گرم آرد بود؛ این در حالی است که مقادیر بدست آمده توسط Taha و El-Adaway (۲۰۰۱) در گستره گزارش شده برای آرد چربی‌گیری شده هندوانه و کدو به ترتیب  $2/55$  و  $2/51$  گرم آب در گرم نمونه بود. فیضی و همکاران (۱۳۹۲) نیز ظرفیت جذب آب آرد شنبليله و سویا را به ترتیب  $1/75$  و  $2/6$  میلی‌لیتر

برای آرد شنبلیله (فیضی و همکاران، ۱۳۹۲) و سویا (Maruatona *et al*, 2010) است. مقدار بدست آمده از مقادیر گزارش شده برای آرد عدس و نخود (Du *et al*, 2012) بیشتر اما از نتیجه بدست آمده توسط Maruatona و همکاران (۲۰۱۰) برای آرد مراما کمتر بود.

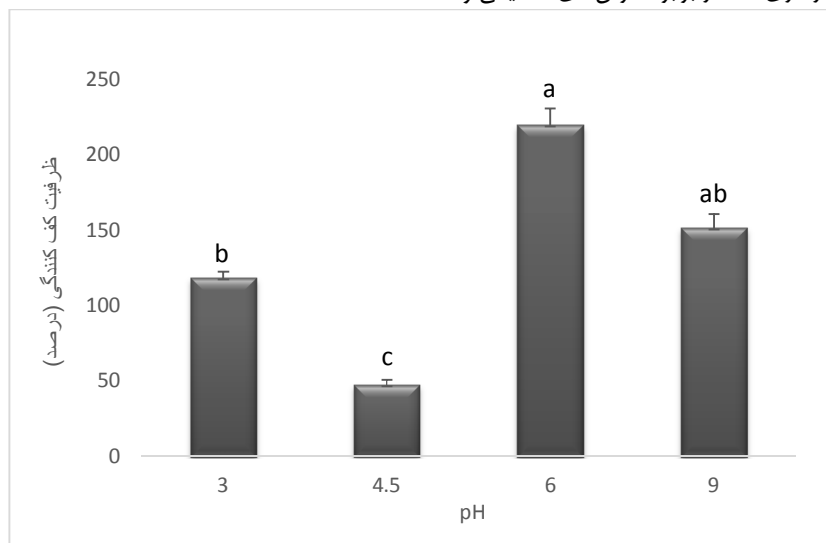
گرم/ گرم) و ایزوله پروتئین تجاری سویا (۱/۲۶ گرم بر گرم) توسط Amza و همکاران (۲۰۱۱) بیشتر، اما از مقادیر گزارش شده برای آرد کدو و هندوانه (به ترتیب ۳/۸۵ و ۳/۸۹ میلی‌لیتر روغن/ گرم آرد) توسط El-Adaway و Taha (۲۰۰۱) کمتر بود. همان‌طور که در جدول ۸ مشاهده می‌گردد این میزان متناسب با مقدار گزارش شده

جدول ۸- ظرفیت جذب آب و جذب روغن آرد حبوبات مختلف

| نوع آرد | ظرفیت جذب آب | ظرفیت جذب روغن | منبع                          |
|---------|--------------|----------------|-------------------------------|
| سویا    | ۴/۳          | ۱/۸±۰/۱        | Maruatona <i>et al</i> , 2010 |
| ماراما  | ۱/۵          | ۲/۷±۰/۱        | Maruatona <i>et al</i> , 2010 |
| شنبلیله | ۱/۷۵±۰/۳۵    | ۱/۷۷±۰/۰۳      | فیضی و همکاران، ۱۳۹۲          |
| عدس     | ۱/۳۳±۰/۰۲    | ۰/۹۳           | Du <i>et al</i> , 2012        |
| نخود    | ۱/۱۹±۰/۰۱    | ۱/۱۰±۰/۰۲      | Du <i>et al</i> , 2012        |

گزارش اتلاق شده و بصورت تغییر در حجم کف در طول یک بازه زمانی خاص (۹۰-۰ دقیقه) تعریف می‌گردد (Oladele & Aina, 2007) دلیل ایجاد کف در آرد مربوط به وجود پروتئین‌های فعال سطحی است (Kinsella, 1979).

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که مقادیر مختلف pH اثر معنی‌داری بر ویژگی‌های کف‌کنندگی دارد. قدرت کف‌کنندگی آرد گاودانه در مقادیر مختلف pH در نمودار زیر نمایش داده شده است.



شکل ۳- مقادیر ظرفیت کف‌کنندگی آرد گاودانه در مقادیر مختلف pH

همخوانی داشت. دور شدن از نقطه ایزوالکتریک و افزایش بار خالص پروتئین، احتمالاً به انعطاف‌پذیری بیشتر پروتئین کمک کرده و مانع برهم‌کنش‌های هیدروفوب-هیدروفوب بین مولکول‌های پروتئین می‌گردد و باعث می‌شود پروتئین راحت‌تر به سطح بین دو فاز منتقل شده و حباب‌های هوا را محصور نماید و باعث افزایش ظرفیت کف-

### ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف

کف در مواد غذایی شامل پراکندگی حباب‌های گاز در داخل یک فاز مایع و یا یک فاز نیمه جامد پیوسته است. خاصیت کف‌کنندگی به‌عنوان درصد افزایش حجم ناشی از زدن تعریف می‌گردد و معمولاً در ایجاد خصوصیات رئولوژیکی مطلوب در مواد غذایی نظیر بافت نان، کیک، خامه زده‌شده و بستنی نقش اساسی دارد و پایداری کف به توانایی پروتئین برای پایداری کف در برابر استرس‌های مکانیکی و

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود قدرت کف‌کنندگی آرد در pH=۴/۵ کمترین و در pH=۶ دارای بیشترین مقدار می‌باشد. دلیل کاهش قدرت کف‌کنندگی در pH=۴/۵ فشردگی پروتئین‌ها در pH ایزوالکتریک بیان شده است که با نتایج اسدپور و همکاران (۱۳۹۰)، El Nasri and El Tinay (2007) و Lawal (2004) و

کنندگی گردد (اسدپور و همکاران، ۱۳۹۰).

ظرفیت کف‌کنندگی برای آرد گاو‌دانه در  $pH=6$  به میزان ۲۱۹ درصد محاسبه گردید. در حالی که این ویژگی به ترتیب ۶۸، ۶۴/۵ و ۴۷/۵ درصد گزارش شده است. وجود اختلاف مقادیر ظرفیت کف‌کنندگی به مقدار و نوع پروتئین‌های محلول و نیز مقدار لیپیدهای قطبی و غیر قطبی آن‌ها نسبت داده شده است (اسدپور و همکاران، ۱۳۹۰).

پایداری کف حاصل از آرد گاو‌دانه در  $pH$  سطح ۴ و تابعی از زمان در شکل ۴ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، پایداری کف در تمامی سطوح  $pH$  با گذشت زمان کاهش می‌یابد. علاوه بر این بیشترین میزان پایداری کف در مورد آرد گاو‌دانه در  $pH=4/5$  مشاهده گردید. پایداری در  $pH$  ایزوالکتریک را می‌توان به صفر بودن برآیند بار الکتریکی در  $pI$ ، کاهش نیروهای دافعه الکتروستاتیک، افزایش پایداری و استحکام برهم‌کنش‌های هیدروفوب-هیدروفوب بین مولکول‌های پروتئین و در نتیجه ایجاد یک لایه ویسکوز و پایدار اطراف حباب‌های هوا نسبت داد. می‌توان عنوان کرد بین قدرت کف‌کنندگی و پایداری کف رابطه معکوسی وجود دارد و آردهایی که قدرت کف‌کنندگی بالایی دارند حباب‌های بزرگتر با دیواره‌ای از فیلم پروتئینی با قدرت انعطاف‌پذیری کمی ایجاد می‌کنند که این کف‌ها سریع‌تر متلاشی می‌شوند و پایداری کمتری دارند. این نتایج با یافته‌های Lawal (۲۰۰۴) در مورد ایزوله پروتئین لوبیای لوکاس، و همچنین اسدپور و همکاران (۱۳۹۰) در مورد آردهای عدس، نخود، لوبیا قرمز و لوبیا چیتی و نیز یافته‌های محققانی نظیر Seena and Sridhar (2005) و Arogundade (2004) هم‌خوانی داشت.

### ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون

تولید امولسیون و پایداری آن در سیستم‌های غذایی مانند سس-های سالاد اهمیت دارد. پروتئین‌ها از اسیدهای آمینه باردار، اسیدهای آمینه قطبی غیرباردار و آمینواسیدهای غیرقطبی تشکیل شده‌اند که به پروتئین ویژگی امولسیفایری می‌بخشد. ظرفیت امولسیون‌کنندگی یک پروتئین کامل به تعادل بخش‌های هیدروفیل-هیدروفوب بستگی دارد و بنابراین وابسته به  $pH$  است؛ علاوه بر آن  $pH$  قلیایی اثر بیشتری نسبت به  $pH$  اسیدی دارد (Ragab et al, 2003).

بررسی آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد اثر ۴ سطح مختلف  $pH$  بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی نمونه‌ها معنی‌دار است ( $P<0.05$ ). با توجه به شکل ۵، کمترین مقدار امولسیون‌کنندگی در  $pH=4/5$  مشاهده شد که نزدیک به  $pH$  ایزوالکتریک است. این مشاهده با نتایج El Nasri and El Tinay (2007) در مورد ایزوله پروتئین شنبلیله،

(Lawal 2004) در مورد ایزوله پروتئین لوبیای لوکاسو، اسدپور و همکاران (۱۳۹۰) در مورد آرد حبوبات مختلف هم‌خوانی داشت. دلیل کاهش ظرفیت امولسیون‌کنندگی در نقطه ایزوالکتریک کاهش حلالیت پروتئین در این نقطه عنوان شده است (فیضی و همکاران، ۱۳۹۲). همچنین ظرفیت امولسیون‌کنندگی با مقدار پروتئین‌های حل شونده در محلول مرتبط است (El Nasri and El Tinay, 2007; Ragab et al, 2003). کاهش حلالیت منجر به کاهش سرعت مهاجرت پروتئین به سمت لایه بین سطحی آب و روغن شده و میزان جذب پروتئین در لایه بین سطحی کاهش می‌یابد. به همین دلیل با کاهش غلظت پروتئین در لایه بین سطحی فعالیت امولسیون‌کنندگی کاهش می‌یابد (Piornos et al, 2015).

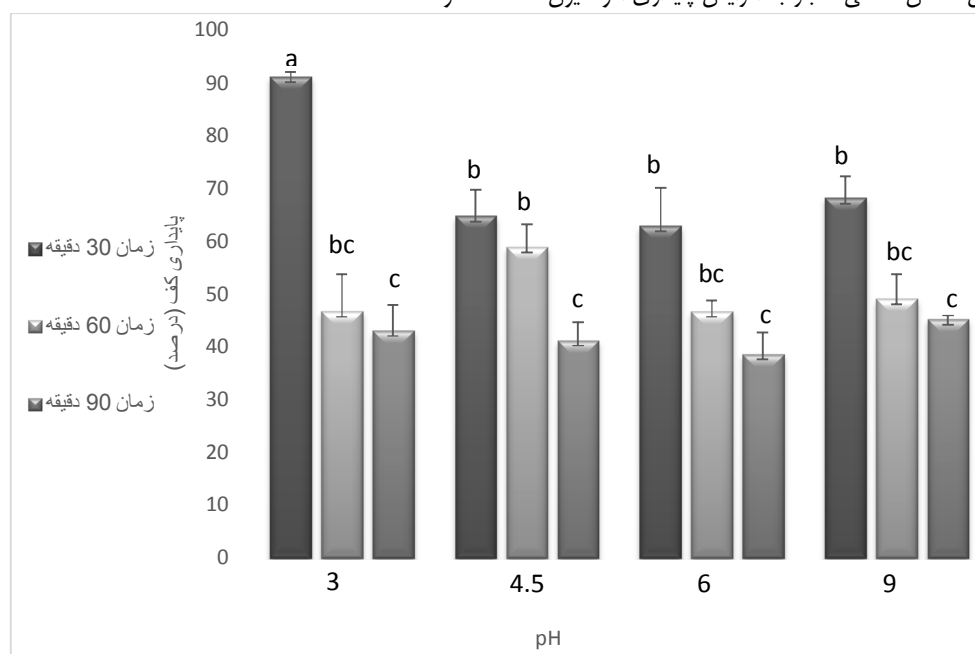
بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی آرد گاو‌دانه در  $pH=9$  مشاهده گردید که دقیقاً منطبق بر نمودار حلالیت پروتئین (شکل ۲) می‌باشد. این نتایج با نتایج پژوهش اسدپور و همکاران (۱۳۹۰) روی آرد لوبیای قرمز و نتایج Adebawal (۲۰۰۵) روی آرد سه نوع حبوبات مطابقت دارد.

پروتئینی که قابلیت حل‌شوندگی بیشتری دارد به سرعت به لایه بین سطحی روغن-آب مهاجرت کرده و ایجاد امولسیون پایداری می‌کند. در  $pH$ های قلیایی شدید نظیر  $pH=9$  به دلیل افزایش بار سطحی و در نتیجه حلالیت به میزان زیادی افزایش می‌یابد و باعث می‌گردد پروتئین در فاز آبی از پایداری بیشتر و سطح انرژی کمتر برخوردار باشد و باعث کاهش کشش سطحی و افزایش ظرفیت امولسیون‌کنندگی گردد.

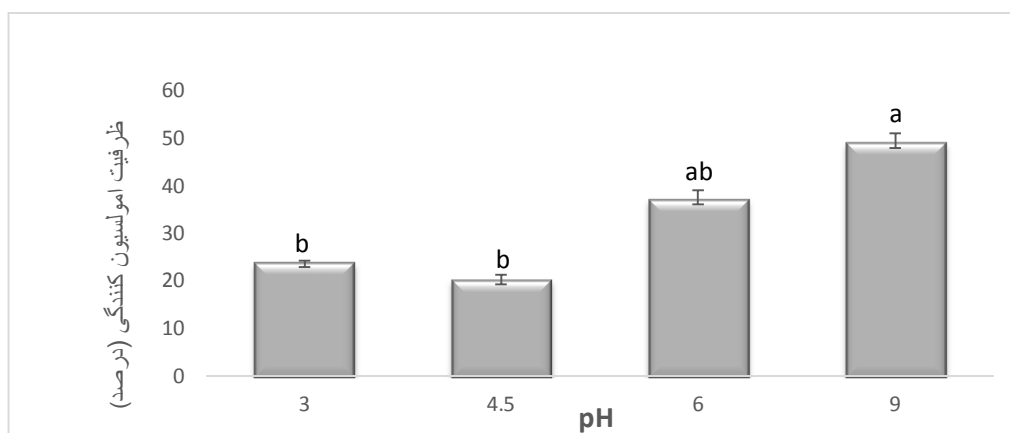
در مورد پایداری امولسیون، اثر زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه بر پایداری امولسیون معنی‌دار بود ( $P<0.05$ ). همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود با گذشت زمان، پایداری امولسیون کاهش می‌یابد که علت این کاهش می‌تواند به هم پیوستن ذرات فاز پراکنده (قطرات روغن) در طی زمان باشد. در مورد اثر  $pH$  بر پایداری امولسیون‌ها نتایج نشان داد مقادیر پایداری در  $pH$  قلیایی بیشتر از  $pH$  اسیدی است به طوری که این پایداری در  $pH=9$  اختلاف معنی‌داری با سایر  $pH$ ها دارد. در  $pH$  ایزوالکتریک نیروهای دافعه پروتئین ضعیف می‌باشند و ذرات امولسیون تمایل به هم پیوستگی و انعقاد دارند بنابراین امولسیون پایداری ضعیفی ایجاد می‌کند. Lawal (۲۰۰۴) و فیضی و همکاران (۱۳۹۲) نیز بیان کردند کمترین پایداری امولسیون در نقطه  $pI$  می‌باشد. Lawal (۲۰۰۴) علت احتمالی کاهش پایداری امولسیون در  $pI$  را کاهش بیش از اندازه نیروهای دافعه در این  $pH$  و در نتیجه تشدید اتصال، تجمع و نهایتاً لخته‌شدن مولکول‌های پروتئین بیان داشت. تغییرات  $pH$  و تغییر در گروه‌های باردار می‌تواند به بهبود خاصیت آگربیزی سطحی کمک نماید.

در  $pH$ های قلیایی شدید نظیر ۹ حلالیت به میزان زیادی افزایش می‌یابد و باعث می‌گردد پروتئین در فاز آبی از پایداری بیشتر برخوردار

باشد و با کاهش کشش سطحی منجر به افزایش پایداری امولسیون - شود.



شکل ۴-مقادیر پایداری کف آرد گاودانه در مقادیر مختلف pH و زمان



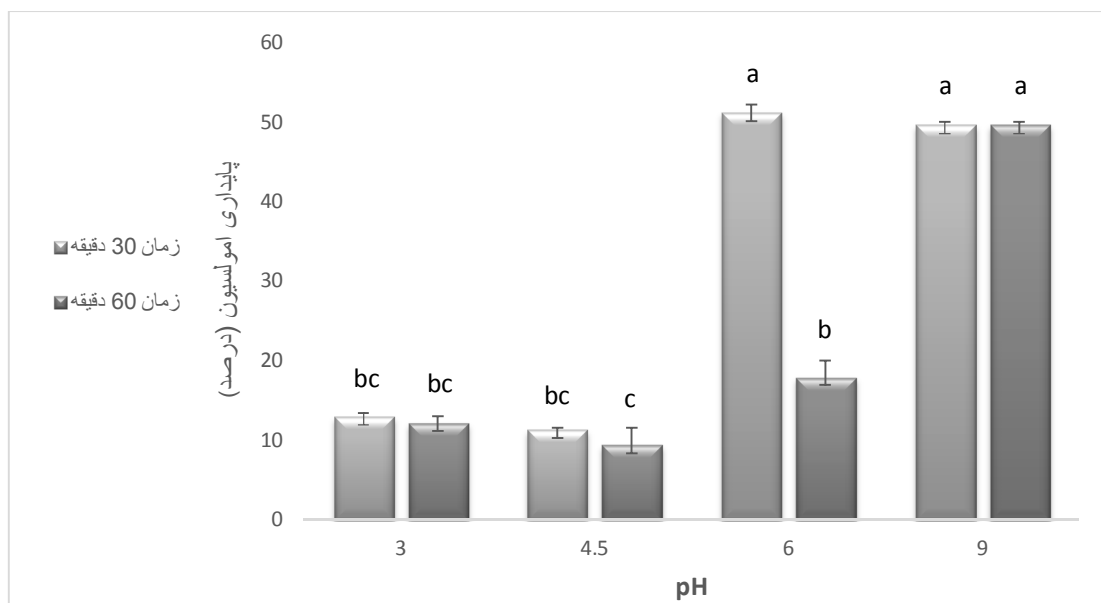
شکل ۵-مقادیر ظرفیت امولسیون کنندگی آرد گاودانه در مقادیر مختلف pH

انعقاد آنها را به تعویق می‌اندازند و بنابراین پایداری حاصل می‌گردد (Piornos *et al*, 2015). ارتباط بین پایداری امولسیون و pH مانند رابطه بین حلالیت پروتئین و pH می‌باشد که با نتایج مطالعات Ragab و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت داشت. Zayas Hung and (۱۹۹۱) عوامل متعددی شامل pH، اندازه ذرات، بار خالص، ویسکوزیته، تنش بین سطحی و ساختار<sup>۱</sup> پروتئین را بر پایداری امولسیون مؤثر می‌دانستند.

علاوه بر این در pHهای شدید قلیایی یا اسیدی، بدلیل دنا توره شدن پروتئین، چسبندگی بین فاز آب و چربی افزایش یافته و استحکام لایه بین آب و روغن بیشتر می‌شود (Lawal *et al*, 2004) همچنین در این H ها به دلیل افزایش ویسکوزیته ناشی از واکنش‌های بین پروتئینی، استحکام فیلم پروتئینی تشکیل شده در فضای بین دو فاز افزایش یافته و در نهایت پایداری امولسیون افزایش می‌یابد (Lawal *et al*, 2000)

هرچه بار الکتریکی اطراف ذرات چربی زیاد باشد نیروهای دافعه،

<sup>۱</sup>conformation



شکل ۶-مقادیر پایداری امولسیون آرد گاو دانه در مقادیر مختلف pH و زمان

پروتئینی بالقوه مورد بررسی‌های بیشتر قرار گیرد. در بخش دوم خواص عملکردی آرد و اثر pH بر این خواص مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد آرد حاصل دارای ویژگی‌های عملکردی مطلوب و قابل مقایسه با سایر حبوبات می‌باشد. علاوه بر این نتایج نشان داد ویژگی‌های عملکردی تحت تاثیر pH بوده و با دور شدن از نقطه ایزوالکتریک و افزایش حلالیت پروتئین، بجز ویژگی پایداری کف، سایر ویژگی‌های عملکردی روند افزایشی داشتند. بنابراین با تغییر pH، می‌توان برخی از خواص را برای مصارف خاص، بهبود داد.

## نتیجه‌گیری

در این پژوهش با هدف شناخت گاو دانه و آرد حاصل از آن، به بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و مکانیکی دانه و نیز ویژگی‌های عملکردی آرد حاصله پرداخته شد. در بخش اول، خصوصیات مکانیکی رایج شامل: ابعاد، قطر حسابی و هندسی، ضریب کرویت، دانسیته و تخلخل و متوسط ضرایب اصطکاکی در لایه‌های مختلف اندازه گیری و با سایر دانه‌ها مقایسه گردید. این دانه دارای پوسته خاکستری رنگ و مغز نارنجی بود. میزان پروتئین و چربی آن به ترتیب ۲۶ درصد و ۹ درصد بدست آمد. بنابراین می‌تواند به عنوان یک منبع

## منابع

- AACC.American Association of Cereal Chemists.Approved Method.2003. 08-03,8th ed., St. Paul, MN, USA.
- Adebawale, Y. A., Adeyemi, I. A., and Oshodi, A. A. 2005.Functional and physicochemical properties of flours of six *Mucuna* species. *African Journal of Biotechnology* 4 (12): 1461-1468.
- Ameri Shahrabi A., Badii F. , Ehsani M.R., Maftoonazad N., Sarmadizadeh D., 2011. Functional and thermal properties of chickpea and soy-protein concentrates and isolates. *Iranian Journal of Nutrition Science and Food Technology*. 6(3). 49-58.
- Amza, T. Amadou, I. Zhu, K. and Zhou, H. 2011. Effect of extraction and isolation on physicochemical and functional properties of an underutilized seed protein: Gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*). *Food Research International*, 44: 553 – 559.
- Arogundade L.A., Akinfenwa M.O., and Salawu A.A. 2004.Effect of NaCl and its partial or complete replacement with KCl on some functional properties of defatted *Colocynthis citrullus* L. seed flour. *Food Chemistry*, 84: 187–193.
- Assadpour, E.; Jafari, S. M.; Mahoonak, A. S.; Ghorbani, M., 2010. Evaluation of Protein Solubility and Water and Oil Holding Capacity of the Legume Flours, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 6(3), 184-192.
- Assadpour, E.; Jafari, S.M.; Mahoonak, A.S.; Ghorbani, M., 2011. Evaluation of emulsifying and foaming capacity of the legume flours and the influence of pH and ionic strength on these properties, *Iranian Food Science and*

- Technology Research Journal*, 7(1), 80-91.
- Belido, L. 1994. Legumes for animal feed. <http://www.hortprduue.edu/new crop/1492/legume-animal.Html>.
- Boye J, Zare F, Pletch A. 2010a. Pulse protein: Processing, characterization, functional properties and application in food and feed. *Food Research International*, 43: 414-431.
- Boye J.I., Aksay S., Roufik S., Ribéreau S., Mondor M., Farnworth E., Rajamohamed S.H. 2010b. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultra filtration and isoelectric precipitation techniques. *Journal of Food Research International*, 43: 537-546.
- Coffman, C. W., & Garcia, V. V. 1977. Functional properties and amino acid content of protein isolate from mung bean flour. *Journal of Food Technology*, 12, 473-484.
- Damodaran, S. 1996. Functional properties. Food proteins: properties and characterization. VCH, New York, pp 167-234.
- Du, S., Jiang, H., Yu, X., Jane, J. 2012. Physicochemical and functional properties of whole legume flour. *LWT - Food Science and Technology*, 55, 308-313.
- El Nasri, N. A., & El Tinay, A. H. 2007. Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. *Food Chemistry*, 103, 582-589.
- El-Adaway, T. A., & Taha, K. M. 2001. Characteristics and composition of Watermelon, Pumpkin, and Paprika seed oils and flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 1253-1259.
- Farran, M.T., Dakessian, P.B., Uwayjan, M.G., Seliman, F.T., Adada, F.A., and Ashkarian, V.M. 1998. Performance of broilers and layers fed high levels of treated vetch (*Vicia sativa*) seeds. *Poultry Science*. 74:1630-1635.
- Feizi S., Varidi M., Zare F. and Varidi M.J., 2013. Investigation of chemical composition, color parameters, and functional properties of Fenugreek flour and comparison with soybean flour. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 2(2), 121-138.
- Golpira H, Tavakoli T., Khoshtaghaza M., Minaei S., 2009. Determination of some mechanical properties of pea for use in designing of harvesting machines. *Journal of Agricultural Science*, 19(2). 1-9.
- Heywood, A.A. Myers, D.J. Bailey, T.B. Johnson, L.A. 2002. Functional Properties of Low-Fat Soy Flour Produced by an Extrusion-Expelling System. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79: 1249-1253.
- Hung, S. C., & Zayas, J. F. 1991. Emulsifying capacity and emulsion stability of milk proteins and corn germ protein flour. *Journal of Food Science*, 56, 1216-1223.
- Joshi, A. U., Liu, C., Sathe, S. K. 2015. Functional properties of select seed flours. *LWT - Food Science and Technology* 60: 325-331.
- Kanu, P. J., Kerui, Z., Ming, Z. H., Haifeng, Q., Kanu, J. B., and Kexue, Z. 2007. Sesame protein: Functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) protein isolate as influenced by pH, temperature, time and ratio of flour to water during its production. *Asian Journal of Biochemistry*, 5: 289-301.
- Kaur, M., Singh Sandha, K. 2010. Functional, thermal and pasting characteristics of flours from different lentil (*Lens culinaris*) cultivars. *Journal of food science and technology-mysore* 47(3):273-278.
- Kaur, M., Singh, N. 2007. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea cultivars. *Food Chemistry*, 102: 366-74.
- Kinsella, J. E. 1979. Functional properties of soy protein. *Journal of American Oil Chemists Society*, 56: 242-249.
- Lawal, O. S. 2004. Functionality of African locust bean (*Parkia biglobosa*) protein isolate: effects of pH, ionic strength and various protein concentrations. *Food Chemistry*, 86: 345-355.
- Majzoobi, M., Abedi, E., Farahnaki, A., Aminlari, M. 2012. Functional properties of acetylated glutenin and gliadin at varying pH values. *Food Chemistry*, 133: 1402-1407.
- Maruatona, G. N., Duodu, K. G., Minnaar, A. 2010. Physicochemical, nutritional and functional properties of maramba bean flour. *Food chemistry*, 121, 400-405.
- Mir, S. A., Bosco, S. J. D., Sunooj, K. V. 2013. Evaluation of physical properties of rice cultivars grown in the temperate region of India. *International Food Research Journal* 20(4): 1521-1527.
- Mohammadi-moghadam A., Razavi S.M.A., and Niknia S., 2008. Study on physical properties of Balango and Shahi seeds. Proceeding of The fifth national congress on agricultural machines and mechanization Engineering. Pages: 1-9.
- Mohsenin, N. N., 1978. Physical Properties of Plant and Animal Materials: Structure, Physical Characteristics and Mechanical Properties. *Gordon and Breach Science Publishers*, New York.
- Oladele, A.K. Aina, J. O. 2007. Chemical composition and functional properties of flour produced from two varieties of tigernut (*Cyperus esculentus*). *African Journal of Biotechnology* .6: 2473-2476.
- Owusu-Apenten, R. K. 2002. Food protein analysis Quantitative effects on processing. Marcel Dekker, Inc. Basel. New York.
- Piornos, J. A., Burgos-Díaz, C., Ogura, T., Morales, E., Rubilar, M., Maureira-Butler, E., Salvo-Garrido, H. 2015. Functional and physicochemical properties of a protein isolate from AluProt-CGNA: A novel protein-rich lupin variety (*Lupinus luteus*). *Food Research International*, 76(3):719-724.
- Ragab, D. M., Babiker, E. E., & El Tinay, A. H. 2003. Fractionation, solubility and functional properties of cowpea

- (*Vigna unguiculata*) proteins as affected by pH and/or salt concentration. *Food Chemistry*, 84, 207-212.
- Ravaghi M. Mazaheri M. Asoodeh A. 2011. Role of Soy Flour Type and Production Procedure on Chemical and Functional Properties of Its Protein Concentrate. *Journal of Food Research* 21(1). 71-82.
- Razavi S.M.A. and Akbari R. 2012. Biophysical properties of Agricultural and Food materials, Published by Ferdowsi University of Mashhad, IRAN.
- Razavi, S. M. A.; Zahedi, I.; Mahdavian Mehr, H. 2009. Some Engineering Properties of Plantago major L. (Barhang) Seed, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 5(2), 88-96.
- Razavi, M.A., Fathi, M. 2009. Moisture-Dependent Physical Properties of Grape (*Vitis vinifera* L.) Seed. *Philippine Agricultural Scientist*, 92:201-212.
- Razavi S.M.A., Tavakoli J., haji Mohamamdi Farimani R. 2006. Study on physical properties of four different modified type of Iranian wheat seed. *Journal of engineering research in Agriculture*, Page 1-6.
- Sadeghi M., Abbasi M. and Masoomi A. 2010. Physical and Aerodynamic Properties of Pinto Bean Grain as Affected by Moisture Content, *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 42(2). 145-152.
- Sadeghi, Gh. Samie, A., Pourreza, J., and Rahmani, H.R. 2004. Canavanine content and toxicity of raw and treated bitter vetch (*Vicia ervilia*) seeds for broiler chicken. *International journal of poultry science*, 3(8):522-529.
- Sathe, S. K., Salunkhe, D. K. 1981. Functional properties of great northern bean proteins: emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. *Journal of Food Science*, 46: 71-75.
- Seena, S. K., Sridhar, R. 2005. Physiochemical, functional and cooking properties of Canavalia, *Food Chemistry*, 32: 406 - 412.
- Shokrollahi Yanchedhmeh, B; Mohebbi, M; Varidi, M; Ansarifar, E, 2014. Effects of Temperature, Frying time and Lentil Flour Addition to the batter formulation on quality of simulated fried crust by using a Deep-Fried Model System, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 10(3). 266-275.
- Sikorski, Z. E. 2002. Chemical and Functional Properties of Food Components. Florida, CRC Press.
- Sosulski F., Garratt, M. D., and Slinkard, A. E. 1976. Functional Properties of Ten Legume Flours. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 9(2): 66-69.
- Traynham, T.L., Myers, D.J., Carriquiry, A.L., Johnson, L.A., and Amer, J. 2007. Evaluation of water holding capacity for wheat-soy flour blends. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84: 151-155.
- Vadivel, V., Janardhanan, K. 2001. Nutritional and anti-nutritional attributes of the under-utilized legume, Cassia floribunda Cav. *Food Chemistry*, 73: 209-215.
- Wu, H., Wang, Q., Maa, T., Ren, J. 2009. Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein. *Food Research International*, 42: 343-348.
- Yal-cin, C. Ozarslan, O. 2004. Physical Properties of Vetch Seed. *Biosystems Engineering*, 88: 507-512.
- Yu, J., Ahmedna, M., Goktepe, I. 2007. Peanut proteins concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Journal of Food Chemistry* 103: 121-129.

## Evaluation the physicochemical and mechanical properties of bittervetch seed (*Viciaervilia*) and the functional properties of its flour

M. Taghizadeh<sup>1\*</sup>, B. Shokrollahi<sup>2</sup>, F.Hamedi<sup>2</sup>

Received: 2016.07.08

Accepted: 2016.12.31

**Introduction:** Lack of protein is one of the most challengeable subjects which are being discussed by nutritionists as well as food manufacturers in all over the world. Therefore, the search for the new sources of edible proteins is one of the interests of food researchers. Among all food sources, legumes are one of the most known sources of proteins. Bittervetch (*Viciaervilia*) seed is one of the legumes families which have a similar shape to red lentil (Farran et al, 1998). The seed has high nutritional value and is able to grow in shallow soil. Having protein content of more than 26.65% (Sadeghi et al., 2004), has make the bittervetch seed a good option to be investigated as a new source of protein. The object of this study was to investigate the physicochemical and mechanical properties of bittervetch seed as well as studying the functional properties of the result flour regarding to introduce a new and beneficial source of protein.

**Materials and Methods:** Bittervetch seed was obtained from local market in Shahrekord city and was cleaned, skinned and milled. The obtained flour was then refrigerated at 4°C for further tests. Physical properties of the seed including size, dimension, mass, true and bulk density as well as porosity were measured using standard methods and calibrated equipments.

In the case of mechanical properties, static coefficient of friction on fur different surfaces as well as the filling and emptying angle of repose were determined.

Chemical composition of both the seed and skinned seed's flour (moisture content, fat, protein and ash) were determined using standard methods (AACC, 2003). The carbohydrate content of the samples was determined by subtraction of the sum of other compositional substances from 100.

Color properties, protein solubility, water and oil absorption capacity, foaming capacity and emulsifying capacity were also measured for the flour obtained from skinned bittervetch seed.

**Results and discussion:** The results obtained from the measurement of physical properties for the bittervetch seed showed that length, width and height of the seeds were in the range of 3.11mm to 4.18mm, 3.16mm to 4.34mm and 3.32mm to 4.98mm, respectively. The average values of  $3.564 \pm 0.223$ mm,  $3.620 \pm 0.185$ mm and  $3.836 \pm 0.222$ mm for the length, width and height of bittervetch seeds, respectively. The surface area of seeds was found to be in the range of  $34.991 \text{mm}^2$  to  $62.187 \text{mm}^2$ . True density, bulk density and porosity of samples were found to be in the range of  $1321 \text{mm}^3$  to  $1322.8 \text{mm}^3$ ,  $0.786 \text{mm}^3$  to  $0.802 \text{mm}^3$  and 39.879% to 41.060%, respectively. According to the results obtained the highest mean for the coefficient of friction was belonged to the three-layer wood surface ( $0.435 \pm 0.003$ ) and the second highest coefficient of friction was belonged to rubber ( $0.424 \pm 0.003$ ) proving the these two surfaces are not appropriate for handling the bittervetch seed. The lowest friction coefficient was found for the glass ( $0.194 \pm 0.003$ ).

L\* was measured for the obtained flour and the highest L\* was found to belonged to skinned seed's flour showing the removing the skin would result in brighter flour.

The test on protein solubility showed high dependency of this parameter to pH of the flour proving the U-form dependency in the pH rage of 2-12. The highest solubility was observed in the pH level of 12 ( $15.622 \text{mg/ml}$ ) and the lowest protein solubility was observed at the pH level of 4.5 ( $1.041 \text{mg/ml}$ ). The flour of this seed contains 24% protein and 9% fat. Water and oil absorbing capacity were obtained  $2.01 \pm 0.01$  and  $1.77 \pm 0.03$  respectively (grams of water or oil per grams of sample). The results also showed that changes in

1 and 2. Assistant professor and PhD student, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Respectively

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

pH, affected the solubility, foaming capacity, foaming stability, emulsion capacity and emulsion stability of bitter vetch flour.

**Keywords:** Bittervetch, Flour, Mechanical Properties, Functional Properties

## برآورد محاسباتی واحدهای رنگی $L^*a^*b^*$ از RGB با کمک پردازش تصاویر دیجیتالی

سامان آبدانان مهدی زاده<sup>۱\*</sup>، سمیه امرایی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۰۹

### چکیده

رنگ اولین ویژگی کیفیت مواد غذایی است که توسط مصرف کنندگان مورد بررسی قرار می گیرد. اندازه گیری رنگ مواد غذایی به عنوان یک شاخص غیرمستقیم در اندازه گیری دیگر ویژگی های کیفیتی مانند عطر و طعم و محتویات رنگدانه به دلیل سرعت و سادگی در اندازه گیری، و همچنین ارتباط با سایر خواص فیزیکی محصولات غذایی مورد استفاده قرار می گیرد. در میان فضاهای رنگی مختلف، عموماً در اندازه گیری رنگ مواد غذایی، از فضای رنگی  $L^*a^*b^*$  با توجه به توزیع یکنواخت و نزدیکی بسیار زیاد به ادراک انسان استفاده می شود. بطور کلی رنگ سنج های تجاری هنگام اندازه گیری رنگ، سطح کوچکی از محصول را پوشش می دهند. در مقابل دوربین های دیجیتال اطلاعات پیکسلی را در اختیار کاربر قرار می دهند؛ این پژوهش یک راه حل محاسباتی به منظور استخراج واحدهای  $L^*a^*b^*$  از اطلاعات پیکسلی تصاویر RGB دیجیتال را ارائه می دهد. در این مطالعه به منظور تبدیل واحدهای RGB به  $L^*a^*b^*$  از چهار مدل: خطی، درجه دوم، شبکه عصبی مصنوعی (ANN) و رگرسیون بردار پشتیبانی (SVR) استفاده گردید. در ارزیابی مدل ها، رگرسیون بردار پشتیبانی و مدل شبکه عصبی به ترتیب با خطای  $0.08$  و  $0.37$  بهترین عملکرد را از خود نشان دادند. با توجه به مدل های شکل گرفته، ارتباط خوبی بین رنگ اندازه گیری و برآورد شده تشکیل شده بود. بنابراین، بر اساس نتایج بدست آمده از بینایی ماشین، روش توصیه شده در این پژوهش برای تبدیل دقیق رنگ یک محصول غذایی از روی اطلاعات پیکسلی یک دوربین دیجیتال به  $L^*a^*b^*$  مناسب می باشد.

واژه های کلیدی: رنگ، RGB،  $L^*a^*b^*$ ، ANN، SVR

### مقدمه

استفاده از ابزار اندازه گیری بسیار مورد توجه می باشد. از جمله دستگاه های رنگ سنج متداول می توان به مینولتا<sup>۳</sup>، هانترلاب<sup>۴</sup> و دکتر لانگ<sup>۵</sup> اشاره کرد. بطور معمول، رنگ در ابزارهای اندازه گیری محصولات غذایی به صورت  $L^*a^*b^*$  (روشنایی)، قرمزی ( $a^*$ ) و زردی ( $b^*$ ) ارزیابی می گردد. این فضای رنگی یک استاندارد بین المللی برای اندازه گیری رنگ است، که توسط کمیسیون بین المللی (CIE) در سال ۱۹۷۶ به تصویب رسید (Mancini *et al.*, 2005). دامنه تغییرات  $L^*$  ۰ تا ۱۰۰ و  $a^*$  و  $b^*$  در محدوده ۱۲۰- تا ۱۲۰ می باشد (Yam *et al.*, 2004). فضای رنگی  $L^*a^*b^*$  دارای توزیع یکنواخت می باشد، یعنی فاصله اقلیدسی بین دو رنگ مختلف، مطابق با فاصله رنگ ادراک شده توسط چشم انسان است (Pathare *et al.*, 2013). با این حال، معمولاً ابزار مورد استفاده برای اندازه گیری رنگ محدودیت پوشش سطوح کوچک را دارند. در این ابزار اگر محل نمونه به دقت انتخاب نگردد تکرارپذیری اندازه گیری ها کاهش می یابد. از طرف دیگر در مواد ناهمگن (مانند اکثر مواد غذایی) اندازه-

برای مصرف کنندگان محصولات غذایی، تازگی به عنوان مهم ترین عامل خرید و انتخاب محسوب می گردد. رنگ از جمله ویژگی هایی است که دارای ارتباطی نزدیک با تازگی است (Maguire, 1994). تعیین رنگ می تواند توسط بازدید بصری (انسان) و یا با استفاده از یک ابزار اندازه گیری رنگ انجام پذیرد. اگر چه بازرسی انسان حتی در حضور تغییرات نور روشی قدرتمند محسوب می گردد، اما تعیین رنگ در این حالت، فردی و از یک ناظر به ناظر دیگر بسیار متغیر است. از این رو به منظور انجام تجزیه و تحلیل عینی تر رنگ، استانداردهای رنگ اغلب به عنوان منابع مرجع استفاده می شود. از نقاط ضعف بررسی توسط ناظر می توان به کندی و نیاز به آموزش های تخصصی و پیچیده ناظران اشاره کرد (Trusell *et al.*, 2005). بنا به دلایل اشاره شده به منظور تعیین علمی و بدون نظر رنگ،

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مکانیک بیوسیستم

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

(\*) - نویسنده مسئول: (Email: s.abdanan@Ramin.ac.ir)

DOI: 10.22067/iftstr.v1395i0.45345

گیری قابل اعتمادی را از خود نشان نمی‌دهند. بعلاوه هزینه بالای دستگاه‌های رنگ‌سنج نیز شایان ذکر است. از این رو به‌منظور انجام ارزیابی دقیق ویژگی‌های رنگی محصولات کشاورزی و غذایی، دانستن ارزش رنگ هر پیکسل در سطح آن حائز اهمیت می‌باشد. با این حال، در حال حاضر رنگ‌سنج‌های تجاری در دسترس تنها بیش از چند سانتی‌متر مربع قادر به اندازه‌گیری رنگ محصول نمی‌باشند (Wu *et al.*, 2013).

پیشرفت‌های سریع سخت‌افزار و نرم‌افزار برای اخذ تصاویر دیجیتال و پردازش آن‌ها از یک طرف و کاهش قابل توجه هزینه تجهیزات در طول سال‌های اخیر این تکنولوژی را قابل دسترس و مقرون به‌صرفه ساخته است. از این رو با توجه به معایب شمرده شده برای رنگ‌سنج‌ها استفاده از روش بینایی ماشین به‌عنوان یک روش ساده و جایگزین، مورد توجه پژوهشگران متعددی بوده است. این روش دارای توانایی تجزیه و تحلیل هر پیکسل در تمام سطوح مواد غذایی را دارد که این ویژگی یک مزیت عمده نسبت به یک رنگ-سنج معمولی محسوب می‌گردد. رنگ بسیاری از محصولات کشاورزی و غذایی با استفاده از روش‌های بینایی ماشین اندازه‌گیری شده است. از آن جمله می‌توان به ارزیابی رنگ آب پرتقال (Fernandez-Vazquez *et al.*, 2011)، ارزیابی رنگ پوشش گندم و مقایسه آن با روش طیف‌سنجی (Zapotocny *et al.*, 2010)، بررسی رنگ چیپس سیب‌زمینی (Pedreschi *et al.*, 2011)، ارزیابی رنگ اسپاگتی (ناصی، ۱۳۹۲)، مطالعه تغییرات رنگ در سیب در خلال انبارمانی (Lang *et al.*, 2012) اشاره کرد. در پژوهش‌های یاد شده ابتدا تصاویر در فضای رنگی RGB اخذ می‌شدند و سپس با استفاده از روش‌های محاسباتی و ماتریس انتقال با پارامترهای ثابت به واحدهای  $L^*a^*b^*$  تبدیل شده‌اند. مشکل عمده استفاده از ماتریس انتقال با پارامترهای ثابت این است که فضای رنگی RGB غیرمطلق است یعنی، اندازه‌گیری رنگ در این فضا به عوامل خارجی مانند حساسیت سنسور دوربین، روشنایی، و غیره وابسته است (Ilie & Paschos, 2001; Welch, 2005; Ilie & Welch, 2005). گزارش کردند که اکثر دوربین‌های یکسان دارای پاسخ مشابهی نمی‌باشند. این بدین معنی است، که تبدیل RGB به  $L^*a^*b^*$  نمی‌تواند بطور مستقیم با استفاده از یک فرمول استاندارد انجام شود. در نتیجه هدف از این پژوهش به دست آوردن دقیق واحدهای دستگاه-مستقل  $L^*a^*b^*$  رنگ از دستگاه-وابسته RGB اخذشده توسط یک دوربین دیجیتال رنگی است. در روش مشابهی Hardeberg و همکاران (۱۹۹۶) و Leon و همکاران (۲۰۰۶) به توسعه روشی به‌منظور تبدیل فضای RGB به  $L^*a^*b^*$  پرداخته‌اند. در روش آن‌ها

یک جدول رنگ حاوی چندین نمونه با  $L^*a^*b^*$  شناخته شده اندازه-گیری و برای کالیبراسیون اجمالی مورد استفاده قرار گرفته شد. با این حال، جزئیات مدل‌های استفاده شده در مقاله (Hardeberg *et al.*, 1996) داده نشده و پوشش احتمالی رنگ در نمودار در نظر گرفته نشده بود. در پژوهش Leon و همکاران (۲۰۰۶) جداول رنگی ۳۲ عدد بود و از جداول رنگی مشابه استفاده نشده بود. بعلاوه آن‌ها داده‌های بدست آمده را ابتدا به فضای XYZ منتقل می‌کردند سپس به فضای  $L^*a^*b^*$  که این مساله خود نیز محاسباتی و زمان‌بر می‌باشد. در پژوهش حاضر یک روش عمومی ارائه شده که قابلیت پیاده‌سازی در هر سیستم بینایی ماشین را دارد. این مطالعه چهار مدل انتقال RGB به  $L^*a^*b^*$  استفاده کرده است: خطی، درجه دوم، رگرسیون بردار پشتیبان<sup>۱</sup> و شبکه عصبی. در این مقاله اطلاعات مربوط به هر مدل و عملکرد آنها ارائه می‌گردد. هدف از این پژوهش پیدا کردن یک مدل برای بدست آوردن  $L^*a^*b^*$  و برآورد پارامترهای آن از واحدهای رنگی RGB است که مستقیماً RGB را به  $L^*a^*b^*$  تبدیل کند.

## مواد و روش‌ها

### اخذ تصاویر و کالیبراسیون

تصاویر مورد استفاده در این پژوهش با دوربین دیجیتال (Samsung, SM-N9005, Korea) با ۱۳ مگا پیکسل رزولوشن، که بصورت عمودی در فاصله ۶۰ سانتی‌متر از نمونه‌ها قرار داشت اخذ گردیدند. زاویه بین محور لنز و منابع نور در حدود ۴۵ درجه و فلاش دوربین در حالت خاموش قرار داده شد. به‌منظور تامین نور در سیستم ۴ لامپ نور طبیعی روز ۱۵۰ W استفاده گردید. لامپ‌ها و دوربین همانطور که در شکل (۱) نشان داده شده است در یک جعبه چوبی که دیوارهای داخلی آن برای به حداقل رساندن نور پس زمینه سیاه نقاشی شده بودند قرار گرفتند. وضوح تصاویر اخذ شده (۱۷۰۷×۱۲۸۰) پیکسل بود که به‌منظور استخراج پارامترهای رنگی به رایانه منتقل گردیدند.

به‌منظور کالیبره کردن سیستم بینایی ماشین، از ۴۲ صفحه رنگی استفاده گردید. هر صفحه رنگی به ۲۴ ناحیه تقسیم گردید که بعد از اخذ تصاویر به‌وسیله دوربین، در هر منطقه ارزش رنگ  $L^*a^*b^*$  با استفاده از رنگ‌سنج مینولتا (Minolta Chromameter CR- Japan, Osaka, 400) اندازه‌گیری گردید. بنابراین، ۱۰۰۸ اندازه‌گیری برای واحدهای RGB (متوسط مقادیر برای هر صفحه رنگی در هر ۲۴ ناحیه) به‌همراه  $L^*a^*b^*$  مربوط به هر ناحیه ثبت گردید.

1 Device-Independent

2 Device-Dependent

آزمون استفاده شدند.

### مدل خطی و درجه دوم

این دو مدل ساده‌ترین روش‌های انتقال از RGB به  $L^*a^*b^*$  هستند که متغیرهایشان به صورت زیر تعریف می‌شوند (رابطه (۱)) مربوط به مدل خطی و رابطه (۲) مربوط به مدل درجه دوم (Stoderstrom *et al.*, 1989):

$$\begin{bmatrix} \hat{L}^* \\ \hat{a}^* \\ \hat{b}^* \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} P_{11} & P_{12} & P_{13} & P_{14} \\ P_{21} & P_{22} & P_{23} & P_{24} \\ P_{31} & P_{32} & P_{33} & P_{34} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \\ 1 \end{bmatrix} \quad (۱)$$

ماتریس ورودی با N اندازه‌گیری برای واحدهای RGB مربوط به مدل خطی و درجه دوم به ترتیب به صورت روابط (۳) و (۴) نمایش داده می‌شود:

$$\begin{bmatrix} \hat{L}^* \\ \hat{a}^* \\ \hat{b}^* \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} P_{11} & P_{12} & P_{13} & P_{14} & P_{15} & P_{16} & P_{17} & P_{18} & P_{19} & P_{1,10} \\ P_{21} & P_{22} & P_{23} & P_{24} & P_{25} & P_{26} & P_{27} & P_{28} & P_{29} & P_{2,10} \\ P_{31} & P_{32} & P_{33} & P_{34} & P_{35} & P_{36} & P_{37} & P_{38} & P_{39} & P_{3,10} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \\ RG \\ RB \\ GB \\ R^2 \\ G^2 \\ B^2 \\ 1 \end{bmatrix} \quad (۲)$$

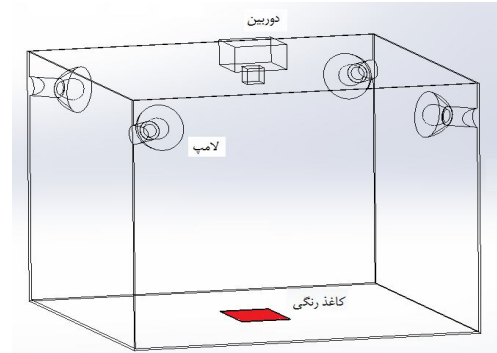
$$X = \begin{bmatrix} R_1 & G_1 & B_1 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ R_N & G_N & B_N & 1 \end{bmatrix} \quad (۳)$$

$$X = \begin{bmatrix} R_1 & G_1 & B_1 & R_1 G_1 & R_1 B_1 & G_1 B_1 & R_1^2 & G_1^2 & B_1^2 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ R_N & G_N & B_N & R_N G_N & R_N B_N & G_N B_N & R_N^2 & G_N^2 & B_N^2 & 1 \end{bmatrix} \quad (۴)$$

در نتیجه برآورد  $L^*$ ، با حداقل رساندن نرم<sup>۱</sup> بین اندازه‌گیری و برآورد  $\|y - \hat{y}\|$  به دست می‌آید. مقدار برآورد توسط رابطه (۶) و (۷)

و بردار خروجی با N اندازه‌گیری برای  $L^*$  به صورت بردار خروجی (۵) مشخص می‌گردد.

$$y = [L_1^* \dots L_N^*]^T \quad (۵)$$



شکل ۱- محل قرارگیری دوربین، لامپها و کاغذهای رنگی در جعبه اخذ تصاویر

### توسعه مدل‌های انتقالی از RGB به $L^*a^*b^*$

قبل از ساخت مدل‌های خطی، درجه دوم و رگرسیون بردار پشتیبان، ۷۰٪ از نمونه‌ها جهت آموزش و ۳۰٪ باقی‌مانده برای تست در نظر گرفته شدند. برای مدل شبکه عصبی که یک مورد خاص بود ۷۰٪ داده‌ها جهت آموزش، ۱۵٪ ارزش‌گذاری و ۱۵٪ باقی‌مانده برای

تعریف می‌شود (Stoderstrom *et al.*, 1989):

$$\hat{y} = x\theta \quad (۶)$$

$$\theta = [X^T X]^{-1} X^T y \quad (۷)$$

مزیت این مدل این است که مستقیم است و راه حل آن با تکرار به دست نمی‌آید.

### مدل شبکه عصبی

متداول‌ترین نوع شبکه‌های عصبی مصنوعی، عبارتند از پیش-خورد، بازخوردی و رقابتی. در این پژوهش از شبکه‌ی عصبی پیش-خورد استفاده شده‌است. این نوع شبکه‌ی عصبی عمدتاً برای تقریب تابع و طبقه‌بندی الگوها استفاده می‌شود. شبکه‌ی پرسپترون چند لایه<sup>۱</sup>، رایج‌ترین شبکه‌ی پیش‌خورد می‌باشد. این شبکه شامل یک لایه‌ی ورودی، یک یا چند لایه پنهان و یک لایه‌ی خروجی است. برای آموزش این شبکه، از الگوریتم یادگیری پس انتشار<sup>۲</sup> استفاده شد که مراحل آموزش به کمک این الگوریتم عبارتست از (Jam & Fanelli, 2000; Khanna, 1990) (الف) - اختصاص ماتریس وزن تصادفی به هر یک از اتصالات (ب) - انتخاب بردار ورودی و بردار خروجی متناسب با آن (ج) - محاسبه‌ی خروجی نرون در هر لایه و در نتیجه محاسبه‌ی خروجی نرون‌ها در لایه‌ی خروجی (د) - بهنگام‌سازی وزن‌ها به روش پس انتشار خطا (ه) - ارزیابی عملکرد شبکه‌ی آموزش دیده به کمک جذر میانگین مربعات خطا (RMSE) و سرانجام برگشت به قسمت ج یا پایان آموزش.

برای محاسبه واحدهای  $L*a*b^*$ ، آموزش و ارزیابی شبکه‌های عصبی مصنوعی از ۳ واحد RGB استفاده شد. تحت شرایط بیان شده در بخش قبل، شبکه‌ی عصبی مصنوعی با ۳ نرون لایه ورودی (R, G و B) و ۳ نرون در لایه‌ی خروجی ( $L^*$ ,  $a^*$  و  $b^*$ ) طراحی شد. شکل (۲) توپولوژی شبکه عصبی مورد استفاده را نشان می‌دهد که در آن پارامترهای ورودی و خروجی آزمایش نشان داده شده است. در این تحقیق از نرم‌افزار MatLab R2013a استفاده شد.

شبکه عصبی طراحی شده دارای ۲ لایه با ۳ نرون در لایه میانی است. به منظور انتخاب تعداد نرون در لایه میانی روش‌های ابتکاری متفاوتی وجود دارد که یک روش آن استفاده از تعداد ورودی و خروجی و رابطه (۸) می‌باشد (Abdanan Mehdizadeh *et al.*, 2014).

$$n = \sqrt{\text{inputs} + \text{outputs}} \quad (۸)$$

که در این رابطه n تعداد نرون‌ها در لایه میانی است. البته این

عدد یک مقدار اولیه است که با سعی و خطا بهینه می‌شود. به منظور تعیین بهترین الگوریتم آموزشی، از یک لایه مخفی استفاده شد (Hornick *et al.*, 1989). الگوریتم‌های آموزش مختلفی برای پس انتشار وجود دارد که از میان آن‌ها الگوریتم‌های آموزش با سرعت یادگیری متغیر<sup>۳</sup> (traingda)، لونیگ-مارکوارت<sup>۴</sup> (trainlm)، کاهش شیب با مومنتم<sup>۵</sup> (traingdm)، پس انتشار ارتجاعی<sup>۶</sup> (trainrp) و شیب توام مقیاس شده<sup>۷</sup> (trainscg) که در مسائل تخمین تابع کارایی بهتری از خود نشان داده و در این پژوهش مورد استفاده و ارزیابی قرار گرفتند (Lolas & Olatunbosun, 2008; Tripathy & Kumar, 2009; Craninx *et al.*, 2008). همچنین از تابع انتقال تانژانت سیگموئید در لایه میانی و تابع خطی در لایه خروجی استفاده گردید. مقدار خطای متوسط آموزش برای شبکه تابع پرسپترون چند لایه با الگوریتم پس انتشار خطا و با توپولوژی‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. بنابراین الگوریتم مذکور انتخاب و نسبت به بهینه‌سازی آن اقدام شد.

### رگرسیون بردار پشتیبانی

توسعه پایه‌های روش‌های ماشین بردار پشتیبان<sup>۸</sup> توسط واپنیک در سال ۱۹۹۸ آغاز و به‌طور گسترده به دلیل ویژگی‌های بسیار جذاب و عملکرد تجربی نوید بخش مورد استفاده قرار گرفتند (Vapnik, 1998). ماشین‌های بردار پشتیبان ابتدا برای حل مسائل طبقه‌بندی توسعه یافتند (Abdanan Mehdizadeh *et al.*, 2014a)؛ سپس در مسائل رگرسیون به‌صورت گسترده استفاده شدند (Alonso *et al.*, 2013).

بیان ریاضی رگرسیون بردار پشتیبانی (SVR) با مجموع داده‌ها شروع می‌شود:

$$S = \{(x_1, y_1), \dots, (x_n, y_n)\} \quad (۹)$$

که در  $(x_i, y_i)$ ،  $x_i \in R^d$  و  $y_i \in R$  هر  $Y_i$  مقدار مطلوب خروجی برای بردار ورودی  $X_i$  است. مدل رگرسیون از این الگوها آموزش دیده و برای پیش‌بینی مقدار مطلوب هدف از بردار ورودی-های نادیده استفاده می‌شود. در میان انواع مختلف ماشین بردار پشتیبان،  $\epsilon$ -SVR بیشتر مورد استفاده است (Vapnik, 1998). هدف پیدا کردن تابع  $f(x)$  است که حداکثر انحرافات  $\epsilon$  از داده‌های واقعی  $Y_i$  برای همه داده‌های آموزشی داشته باشد. به عبارت دیگر، تا زمانی که آنها در گروه غیرحساس به  $\epsilon$  ( $\epsilon$ -tube) هستند، به

- 3 Variable Learning Rate
- 4 Lovenberg Marquardt
- 5 Gradian Descent with Momentum
- 6 Resilient backpropagation
- 7 Scaled conjugate gradient
- 8 Support Vector Machines

- 1 Multilayer Perceptron
- 2 Back Propagation

خطاها اهمیتی داده نمی‌شود (شکل ۳).

در این معادلات،  $C$  پارامتری است که پیچیدگی مدل و خطاهای آموزشی را موازنه می‌کند،  $\xi_i$  و  $\xi_i^*$  به ترتیب متغیرهای بی‌اثر برای مقدار هدف تا بیش و کمتر از  $\varepsilon$  هستند. تابع زیان  $\xi - \varepsilon$  به صورت رابطه (۱۰) تعریف می‌گردد:

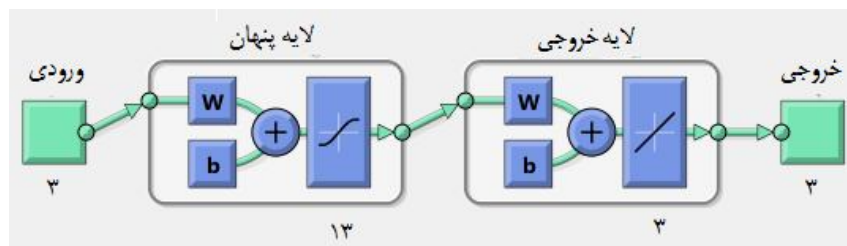
$$|\xi|_{\varepsilon} = \begin{cases} 0 & |\xi| \leq \varepsilon \\ |\xi| - \varepsilon & |\xi| > \varepsilon \end{cases} \quad (10)$$

در نظر داشته باشید که:  $\phi: R^d \rightarrow F$

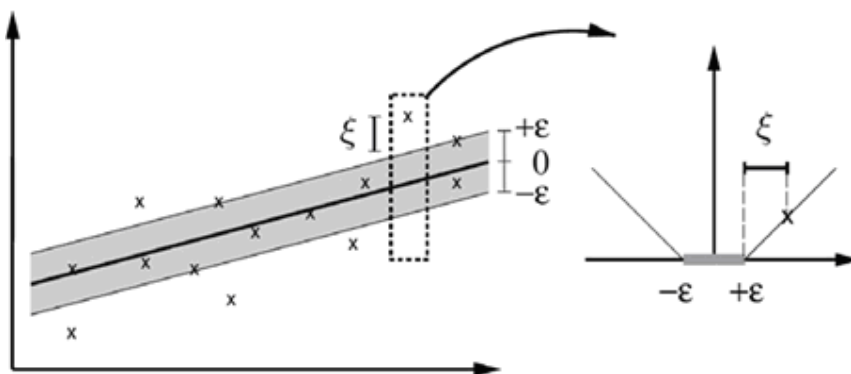
می‌تواند یک تابع غیر خطی از فضای ورودی  $R^d$  به فضای ویژگی  $f$  باشد. در نتیجه ابرصفحه رگرسیون به صورت رابطه (۱۱) قابل تعریف می‌باشد

$$f(x) = \langle w, \phi(x) \rangle + b \quad (11)$$

$$\begin{aligned} & \frac{1}{2} \langle w, w \rangle + c \sum_{i=1}^n (\xi_i + \xi_i^*), \\ & (\langle w, \phi(x_i) \rangle + b) - y_i \leq \varepsilon + \xi_i, \\ & y_i - (\langle w, \phi(x_i) \rangle + b) \leq \varepsilon + \xi_i^*, \\ & \xi_i, \xi_i^* \geq 0, i = 1, \dots, n, \end{aligned} \quad (9)$$



شکل ۲- توپولوژی شبکه عصبی مورد استفاده



شکل ۳- تفسیر هندسی  $\varepsilon$ -tube و تابع اتلاف  $\varepsilon$  غیر حساس SVR خطی (Alonso et al., 2013)

به جای فضای ویژگی چند بعدی<sup>۳</sup> است. در این پژوهش از تابع شعاعی پایه<sup>۴</sup> (RBF) یکی از تابع کرنل‌هایی است که بطور گسترده در مسائل خطی و غیرخطی استفاده شده است و به صورت رابطه (۱۲) تعریف می‌شود، استفاده گردید (آبدانان مهدی‌زاده، ۱۳۹۳).

که در آن  $W$  بردار وزن ورودی است، و  $b$  افسست<sup>۱</sup> است. در بسیاری از مسائل ارتباط بین مؤلفه های خروجی و ورودی غیر خطی است؛ در نتیجه به منظور انجام انتقال به توابع کرنل<sup>۲</sup> نیاز می‌باشد. ایده تابع کرنل فراهم نمودن امکان انجام عملیات در فضای ورودی

3 High dimensional  
4 Radial basis function

1 Offset  
2 Kernel

به منظور کارایی مقایسه گردید.

میانگین خطای نرمال در برآورد هر یک از متغیرهای  $L^*a^*b^*$  به وسیله مقایسه اندازه گیری های رنگ سنج با برآوردهای مدل  $(\hat{L}_i^*, \hat{a}_i^*, \hat{b}_i^*)$  با استفاده از روابط ۱۳، ۱۴ و ۱۵ برای روش های مختلف محاسبه گردید.

$$e_L = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|L_i^* - \hat{L}_i^*|}{\Delta L} \quad (13)$$

$$e_a = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|a_i^* - \hat{a}_i^*|}{\Delta a} \quad (14)$$

$$e_b = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|b_i^* - \hat{b}_i^*|}{\Delta L} \quad (15)$$

خطاها با توجه به طیف وسیعی از هر یک از مقیاس ها نرمالیزه و میانگین خطای محاسبه شده برای هر روش در جدول (۲) گزارش شده است

مدل نشان می دهد که رگرسیون بردار پشتیبان و شبکه عصبی بهترین عملکرد در محاسبه  $L^*a^*b^*$  دارند و با خطا کل ۰/۸۸ و ۲/۳۷ به ترتیب عملکرد خوبی را برای آزمایش های بعدی تضمین می کند. برای بهترین مدل ها (رگرسیون بردار پشتیبان و شبکه عصبی)، نمودار مقادیر واقعی و برآورد شده ترسیم گردید (شکل ۵). مطابق شکل ۵ همبستگی بالایی میان مقادیر واقعی  $L^*a^*b^*$  با برآورد شده  $(\hat{L}_i^*, \hat{a}_i^*, \hat{b}_i^*)$  وجود دارد که این مساله حاکی از قابلیت بالای روش بینایی ماشین در تبدیل پارامترهای رنگی دوربین دیجیتال (RGB) به  $L^*a^*b^*$  است

به منظور نشان دادن قابلیت روش پیشنهادی، رنگ یک پوست پرتقال و درون میوه کیوی با استفاده از هر دو روش رنگ سنجی هانتربل و روش بینایی ماشین اندازه گیری شد. اندازه گیری با دستگاه رنگ سنجی با میانگین ۶ اندازه گیری (در ۶ مکان مختلف در سطح پوست پرتقال و درون میوه کیوی) بدست آمد. در حالی که اندازه گیری با استفاده از بینایی ماشین با میانگین تمام پیکسل ها از تصویر سطح تخمین زده شد. نتایج بدست آمده در شکل (۶) آورده شده است به منظور تعیین وجود ارتباط معنی دار میان پارامترهای محاسبه شده به روش بینایی ماشین و اندازه گیری شده با دستگاه رنگ سنج برای دو میوه کیوی و پرتقال ضرایب همبستگی میان این دو روش محاسبه گردید (جدول ۳ و ۴).

مطابق ضرایب همبستگی بدست آمده در جداول ۳ و ۴ میان اعداد محاسبه شده با هر دو روش بینایی ماشین (ANN و SVR) برای هر دو میوه پرتقال و کیوی و اعداد اندازه گیری شده با دستگاه رنگ سنج در سطح احتمال ۵٪ ارتباط معنی داری وجود دارد که این مساله حاکی از دقت روش پیشنهادی است. در پژوهشی Leon و همکاران (۲۰۰۶) مدل های مختلف برای تبدیل ارزش قرمز، سبز و

$$K_R(x, \hat{x}) = e^{(-\gamma \|x - \hat{x}\|^2)}, \quad \gamma > 0 \quad (12)$$

که در آن C پارامتر عرض کرنل است.

برای رسیدن به عملکرد مطلوب SVR، در کرنل RBF دو پارامتر  $\gamma$  (رابطه ۱۲) و C (رابطه ۹) نیاز به تنظیم دارد. در پژوهش حاضر مقدار خطای RMSE برای بهترین عملکرد محاسبه و مقادیر ذکر شده با استفاده از روش بهینه سازی محدب<sup>۱</sup> از بازه  $[10^{-3} \ 10^3]$  به ترتیب ۰/۵ و ۴۰۰ برای  $\gamma$  و C بدست آمدند.

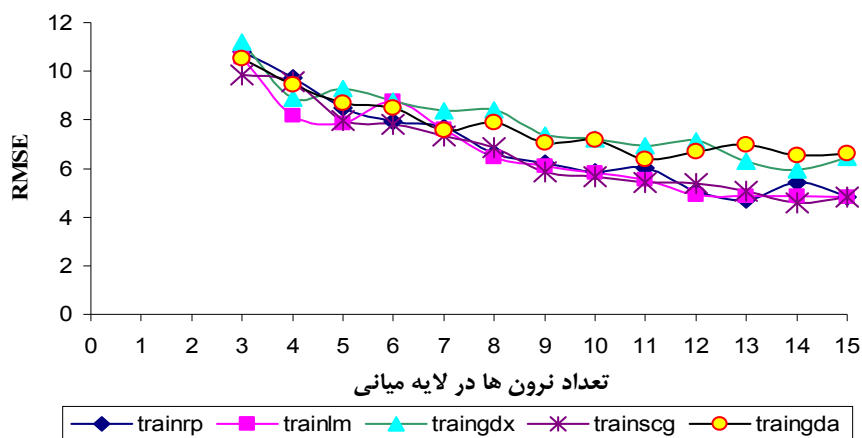
## نتایج و بحث

در ابتدا با توجه به اینکه روش شبکه عصبی یک روش محاسباتی است و نیاز به بهینه سازی تعداد نرون ها در لایه میانی دارد تعداد نرون های لایه میانی از ۳ تا ۱۵ نرون تغییر داده شد. تعداد بهینه نرون ها در لایه میانی برای هر الگوریتم آموزش با توجه به مقدار RMSE محاسبه گردید (شکل ۴). شایان ذکر است که با توجه به اینکه الگوریتم آموزش trainingdm دارای نوسانات زیاد و دقت کمتری در برآورد واحدهای  $L^*a^*b^*$  داشت به آن در شکل (۴) اشاره نشد نتایج آموزش نشان داد، کمترین مقدار میانگین مربعات خطا برای شبکه پرسپترون با قاعده یادگیری پس انتشار ارتجاعی (trainrp) با ۱۳ نرون در لایه میانی بود. به منظور تسهیل مقایسه بهترین حالت الگوریتم های آموزش نتایج الگوریتم های مختلف آموزش در جدول (۱) لیست گردید.

مطابق جدول ۱ دو الگوریتم با قاعده یادگیری پس انتشار ارتجاعی (trainrp) با ضریب همبستگی ۰/۹۵۵ و مجذور میانگین مربعات خطا ۴/۸۲ و لونبرگ - مارکوارت (trainlm) با ضریب همبستگی ۰/۹۵۴ و مجذور میانگین مربعات خطا ۴/۸۳ برآورد بهترین واحدهای  $L^*a^*b^*$  داشتند Craninx و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهشی از الگوریتم های مختلف آموزش در شبکه عصبی به منظور پیشگویی الگوی تخمیر در شکمبه گاو شیری استفاده نمودند. آنها دریافتند که الگوریتم آموزشی لونبرگ - مارکوارت با ۱۴ نرون در لایه میانی بهترین پیشگویی الگوی تخمیر را داشت. Lolاس و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهشی دیگر که به منظور پیشگویی قابلیت اطمینان خودروها از شبکه عصبی استفاده گردید از میان الگوریتم های آموزشی مختلف، پس انتشار ارتجاعی در مقایسه با الگوریتم های دیگر جواب یکنواخت - تری از خود ارائه داد. در این پژوهش دومین، بهترین الگوریتم آموزشی از نظر یکنواختی در جواب ها الگوریتم لونبرگ - مارکوارت گزارش گردید. در نتیجه از میان الگوریتم های مختلف یادگیری پس - انتشار ارتجاعی با ۱۳ نرون در لایه میانی انتخاب و با روش های دیگر

توسط ناظر صورت پذیرفت. رنگ بدست آمده در روش بینایی ماشین بسیار نزدیک به متوسط رنگ واقعی فیله ماهی آزاد اقیانوس اطلس تعیین شده توسط ناظر بود. در حالی که اندازه‌گیری صورت پذیرفته با استفاده از رنگ‌سنج متمایل به رنگ ارغوانی برای هر ۳ پارامتر رنگی  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  مشاهده گردید. با توجه به مقادیر بدست آمده روش پیشنهادی قابلیت تبدیل موفق واحدهای رنگی دستگاه-وابسته (RGB) به دستگاه-مستقل ( $L^*a^*b^*$ ) را دارا می‌باشد. البته شایان ذکر است که روش پیشنهادی نسبی می‌باشد و در صورتی که شرایط (نور پردازی و دوربین) تغییر کنند توابع انتقال می‌بایست مجدد بدست بیایند.

آبی از تصاویر دیجیتال به  $CIEL^*a^*b^*$  فضای رنگی مقایسه کردند. آنها مجموعه‌ای از ۳۲ نمودار رنگی استفاده کردند و مشاهده کردند که زمانی که یک مدل درجه دوم و یک شبکه عصبی مورد استفاده قرار گرفت رگرسیون بین مختصات رنگ  $CIEL^*a^*b^*$  بدست آمده از تصاویر دیجیتال و رنگ‌سنج با ضریب تشخیص ( $R^2$ ) بیشتر از ۰/۹۹ مرتبط می‌باشد. Yagiz و همکاران (۲۰۰۹) در پژوهشی دیگر روش رنگ‌سنجی با دستگاه مینولتا و بینایی ماشین در اندازه‌گیری رنگ ماهی آزاد تابش دیده با امواج UV با دوزهای مختلف را با یکدیگر مقایسه کردند. اعداد بدست آمده در روش بینایی ماشین برای  $a^*$ ،  $L^*$  و  $b^*$  در مقایسه با رنگ‌سنج مینولتا به صورت معنی‌داری بالاتر بودند. سپس به منظور تعیین رنگ‌های واقعی، ارزیابی بصری بر روی نمونه‌ها



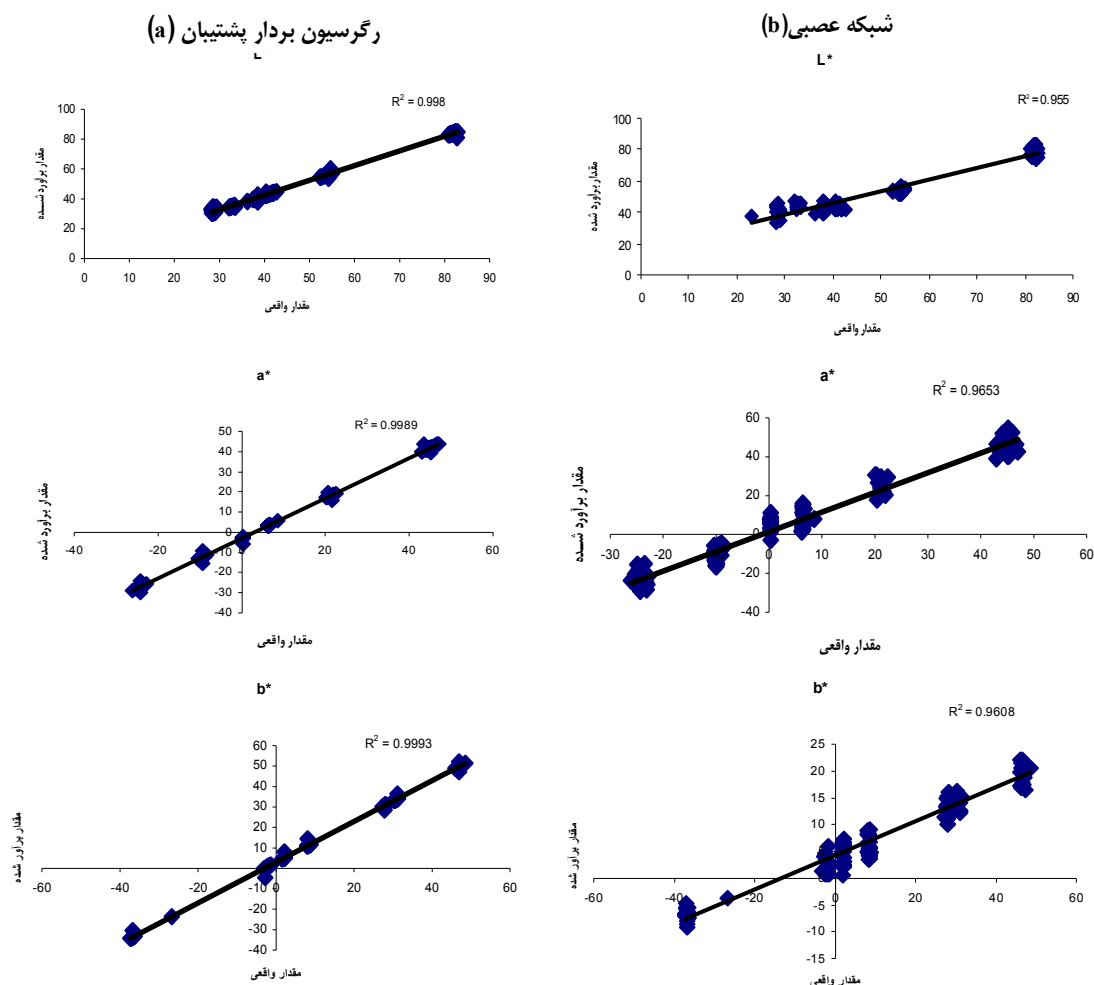
شکل ۴- مقدار خطای پیشگویی با قواعد یادگیری مختلف بر اساس تعداد نرون‌های مختلف در لایه میانی

جدول ۱- مشخصات مربوط به شبکه‌های ایجادشده

| الگوریتم آموزشی | تعداد نرون‌ها در لایه مخفی | ضریب همبستگی مجموعه آموزش | مجدور میانگین مربعات خطا (RMSE) |
|-----------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| traingdm        | ۱۱                         | ۰/۴۲۳                     | ۴۲/۷۵                           |
| traingdx        | ۱۴                         | ۰/۹۲۲                     | ۵/۹۵                            |
| traingda        | ۱۰                         | ۰/۹۱۹                     | ۶/۳۷                            |
| trainlm         | ۱۳                         | ۰/۹۵۴                     | ۴/۸۳                            |
| trainscg        | ۱۴                         | ۰/۹۴۱                     | ۵/۰۷                            |
| trainrp         | ۱۳                         | ۰/۹۵۵                     | ۴/۸۲                            |

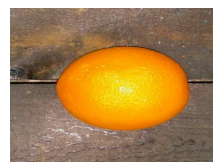
جدول ۲- خطاها در محاسبه  $L^*a^*b^*$  در مراحل مختلف

| مدل                   | آموزش (%) | آزمون (%) | کل (%) |
|-----------------------|-----------|-----------|--------|
| خطی                   | ۱۵/۷۱     | ۱۵/۸۶     | ۱۵/۸۵  |
| درجه دوم              | ۲۰/۱۱     | ۱۹/۹۳     | ۱۹/۹۲  |
| شبکه عصبی             | ۲/۵۴      | ۲/۴۹      | ۲/۳۷   |
| رگرسیون بردار پشتیبان | ۱/۲۱      | ۰/۹۵      | ۰/۸۸   |



شکل ۵- مقادیر تخمین زده شده  $L^*a^*b^*$  با روش های رگرسیون بردار پشتیبان (ستون (a)) و شبکه عصبی (ستون (b))

| روش اندازه گیری    | $L^*$ | $a^*$ | $b^*$ |
|--------------------|-------|-------|-------|
| رنگ سنج            | ۵۸/۹۸ | ۲۸/۳۲ | ۳۵/۴۹ |
| بینایی ماشین (SVR) | ۶۱/۲۰ | ۲۷/۳۰ | ۳۵/۳۸ |
| بینایی ماشین (ANN) | ۶۰/۱۸ | ۳۰/۱۹ | ۳۰/۶۰ |



| روش اندازه گیری    | $L^*$ | $a^*$ | $b^*$ |
|--------------------|-------|-------|-------|
| رنگ سنج            | ۱۳/۷۴ | ۱۶/۵  | ۱۲/۶۰ |
| بینایی ماشین (SVR) | ۴۱/۲۹ | ۷/۱۳  | ۱۴/۵۳ |
| بینایی ماشین (ANN) | ۴۳/۹۱ | ۳/۷۳  | ۹/۲۸  |



شکل ۶- مقادیر تخمین زده شده  $L^*a^*b^*$  با روش های رگرسیون بردار پشتیبان و شبکه برای سطح پوست پرتقال و درون میوه کیوی

جدول ۳- آنالیز همبستگی میان پارامترهای محاسبه شده به روش بینایی ماشین و اندازه گیری شده بوسیله دستگاه رنگ سنج برای میوه پرتقال

| رنگ سنج            | بینایی ماشین (SVR) | بینایی ماشین (ANN) |
|--------------------|--------------------|--------------------|
| رنگ سنج            | ۱                  | ۰/۹۵۹*             |
| بینایی ماشین (SVR) | ۰/۹۶۳*             | ۱                  |
| بینایی ماشین (ANN) | ۰/۹۵۹*             | ۰/۹۵۰*             |

\* در سطح احتمال ۵٪ و معنی دار است.

جدول ۴- آنالیز همبستگی میان پارامترهای محاسبه شده به روش بینایی ماشین و اندازه گیری شده بوسیله دستگاه رنگ سنج برای دو میوه کیوی

| رنگ سنج            | بینایی ماشین (SVR) | بینایی ماشین (ANN)   |
|--------------------|--------------------|----------------------|
| رنگ سنج            | ۱                  | ۰/۸۹۳*               |
| بینایی ماشین (SVR) | ۰/۹۵۱*             | ۰/۷۰۹ <sup>n.s</sup> |
| بینایی ماشین (ANN) | ۰/۸۹۳*             | ۰/۷۰۹ <sup>n.s</sup> |

در سطح احتمال ۵٪ و معنی دار است.

n.s معنی دار نیست.

## نتیجه گیری

شبکه عصبی مصنوعی (ANN) و رگرسیون بردار پشتیبانی (SVR) به منظور استخراج واحدهای  $L^*a^*b^*$  از اطلاعات پیکسلی تصاویر RGB دیجیتال ارائه شد. با توجه به ارزیابی مدل‌ها، رگرسیون بردار پشتیبانی و مدل شبکه عصبی به ترتیب با خطای ۰/۸۸ و ۲/۳۷ بهترین عملکرد را از خود نشان دادند. بنابراین، بر اساس نتایج بدست آمده از بینایی ماشین، از روش توصیه شده در این پژوهش برای تبدیل اطلاعات پیکسلی یک دوربین دیجیتال (RGB) به  $L^*a^*b^*$  می‌توان به خوبی بهره جست.

رنگ از جمله ویژگی‌هایی است که دارای ارتباطی نزدیکی با تازگی است. از میان فضای رنگی متفاوت  $L^*a^*b^*$  دارای با توجه به داشتن توزیع یکنواخت، مطابق با فاصله رنگ ادراک شده توسط چشم انسان می‌باشد. اما دستگاه‌های رنگ سنج تجاری بطور کلی هنگام اندازه‌گیری رنگ، سطح کوچکی از محصول را پوشش می‌دهند. در مقابل دوربین‌های دیجیتال اطلاعات پیکسلی را در اختیار کاربر قرار می‌دهند. در این پژوهش از روش‌های محاسباتی خطی، درجه دوم،

## منابع

- آبدانان مهدیزاده، س.، ۱۳۹۵. تشخیص ترک در پوسته تخم‌مرغ با استفاده از PCA و SVM. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۵۶(۱۳)، ۱۴۳-۱۵۳.
- ناصری، ب.، ۱۳۹۲، بررسی روش‌های مختلف ارزیابی رنگ در اسپاگتی، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۳(۱)، ۴۷-۵۷.
- Abdanan Mehdizadeh, S., Minaei, S., Hancock, N. H. & Karimi Torshizi M. A., 2014. An intelligent system for egg quality classification based on visible-infrared transmittance spectroscopy. *Information Processing in Agriculture*, 1, 105-114.
- Abdanan Mehdizadeh, S., Sandell, G., Golpour, A. & Karimi Torshizi M. A., 2014. Early Determination of Pharaoh Quail Sex after Hatching Using Machine Vision. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 1, 105-114.
- Alonso, J., Castanon, A. R., & Bahamonde, A., 2013. Support Vector Regression to predict carcass weight in beef cattle in advance of the slaughter. *Computers and Electronics in Agriculture*, 91, 116-120.
- Craninx, M., Fievez, V., Vlaeminck, B., & De Baets, B., 2008. Artificial neural network models of the rumen fermentation pattern in dairy cattle. *Computers and Electronics in Agriculture*, 60(2), 226-238.
- Fernandez-Vazquez, R., Stinco, C. M., Melendez-Martinez, A. J., Heredia, F. J., & Vicario, I. M., 2011. Visual and instrumental evaluation of orange juice color: a consumers' preference study. *Journal of Sensory Studies*, 26, 436-444.
- Hardeberg, J. Y., Schmitt, F., Tastl, I., Brettel, H., & Cretiez, J.-P., 1996. In Proceedings of 4th Color Imaging Conference: Color Science, Systems and Applications, Scottsdale, Arizona, Nov, pp. 108-113.
- Hornick, K., Stinchcombe, M., & White, H., 1989. Multilayer feedforward networks are universal approximators. *Neural Networks*, 2, 359-366.
- Ilie, A., & Welch, G., 2005. Ensuring color consistency across multiple cameras. In Proceedings of the tenth IEEE international conference on computer vision (ICCV-05), Vol. 2, 17-20 Oct (pp. 1268-1275).
- Jam, L., & Fanelli, A. M., 2000. Recent advances in artificial neural networks design and applications, CRC Press.

- Khanna, T., 1990. Foundations of Neural Networks, Addison-Wesley Publishing Company.
- Lang, C., & Hübert, T., 2012. A color ripeness indicator for apples. *Food and Bioprocess Technology*, 5(8), 3244-3249.
- Leon, K., Mery, D., Pedreschi, F., & Leon, J., 2006. Color measurement in L\*a\* b\* units from RGB digital images. *Food research international*, 39(10), 1084-1091.
- Lolas, S., & Olatunbosun, O. A., 2008. Prediction of vehicle reliability performance using artificial neural networks. *Expert Systems with Applications*, 34(4), 2360-2369.
- Maguire, K., 1994. Perceptions of meat and food: Some implications for health promotion strategies. *British Food Journal*, 96(2), 11-17.
- Mancini, R. A., & Hunt, M. C., 2005. Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100-121.
- Mendoza, F., & Aguilera, J. M., 2004. Application of image analysis for classification of ripening bananas. *Journal of Food Science*, 69, 471-477.
- Paschos, G., 2001. Perceptually uniform color spaces for color texture analysis: an empirical evaluation. *IEEE Transactions on Image Processing*, 10(6), pp.932-937.
- Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J., 2013. Color measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36-60.
- Pedreschi, F., Mery, D., Bunger, A., & Yanez, V., 2011. Computer vision classification of potato chips by color. *Journal of Food Process Engineering*, 34, 1714-1728.
- Stoderstrom, T., & Stoica, P., 1989. System identification. New York: Prentice-Hall.
- Tripathy, P. P., & Kumar, S., 2009. Neural network approach for food temperature prediction during solar drying. *International Journal of Thermal Sciences*, 48(7), 1452-1459.
- Trusell, H. J., Saber, E., & Vrhel, M., 2005. Color image processing, *IEEE Signal Processing Magazine*, 22(1), 14-22.
- Vapnik, V.N., 1998. Statistical Learning Theory. *Wiley-Interscience*, New York.
- Wu, D., & Sun, D. W., 2013. Color measurements by computer vision for food quality control—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 29(1), 5-20.
- Yagiz, Y., Balaban, M. O., Kristinsson, H. G., Welt, B. A., & Marshall, M. R., 2009. Comparison of Minolta colorimeter and machine vision system in measuring colour of irradiated Atlantic salmon. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 728-730.
- Yam, K. L., & Papadakis, S., 2004. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61, 137-142.
- Zapotoczny, P., & Majewska, K., 2010. A comparative analysis of colour measurements of the seed coat and endosperm of wheat kernels performed by various techniques. *International Journal of Food Properties*, 13, 75-89.

## Computational estimation of L\*a\*b\* units from RGB using machine vision

S. Abdanan Mehdizadeh<sup>\*1</sup>, S. Amraee<sup>2</sup>

Received: 2015.03.15

Accepted: 2015.05.30

**Introduction:** Color is the first quality attribute of food evaluated by consumers, and is therefore an important quality component of food which influences consumer's choice and preferences (Maguire, 1994). Color measurement of food products has been used as an indirect measure of other quality attributes such as flavor and contents of pigments because it is simpler, faster and correlates well with other physicochemical properties. Therefore, rapid and objective measurement of food color is required in quality control for the commercial grading of products (Trusell *et al.*, 2005). Among different color spaces, L\*a\*b\* color space is the most practical system used for measuring of color in food due to the uniform distribution of colors in this system as well its high similarity to human perception of color. All of the commercial L\*a\*b\* colorimeters generally measure small, non- representative areas (Pathare *et al.*, 2013) while the RGB digital cameras obtain information in pixels. Therefore, this research establishes a computational solution which allows acquiring of digital images in L\*a\*b\* color units for each pixel from the digital RGB image (Fernandez-Vazquez *et al.*, 2011). In recent years, computer vision has been used to objectively measure the color of different foods since they provide some obvious advantages over a conventional colorimeter, namely, the possibility of analyzing of each pixel of the entire surface of the food, and quantifying surface characteristics and defects (Mendoza & Aguilera, 2004). The color of many foods has been measured using computer vision techniques (Pedreschi *et al.*, 2011; Lang *et al.*, 2012). A computational technique with a combination of a digital camera, image processing software has been used to provide a less expensive and more versatile way to measure the color of many foods than traditional color-measuring instruments. This study used four models to carry out the RGB to L\*a\*b\* transformation: linear, quadratic, support vector regression and neural network. This article presents the details of each model, their performance, and their advantages and disadvantages. The purpose of this work was to find a model (and estimate its parameters) for obtaining L\*a\*b\* color measurements from RGB measurements.

**Materials and Methods:** The images used in this work were taken with the following image acquisition system (Samsung, SM-N9005 color digital camera with 13 Mega pixels of resolution ,Fig.1). The camera was placed vertically at a distance of 60 cm from the samples and the angle between the axis of the lens and the sources of illumination was approximately °45. Illumination was achieved with 4 natural daylight 150 W lights.

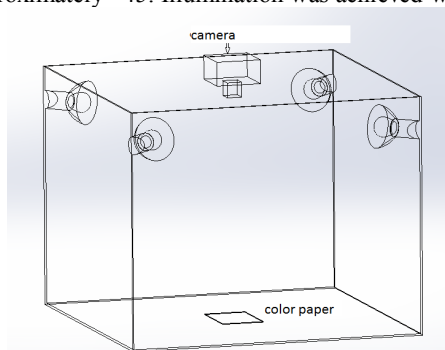


Fig. 1. Schematic diagram of image acquisition system.

In order to calibrate the digital color system, the color values of 42 color charts were measured. Each color chart was

1 and 2 Assistant professor and MSc student of Mechanics of Biosystems Engineering , Department, Faculty of Agricultural Engineering and Rural Development, Ramin University of Agriculture and Natural Resources of Khuzestan, Respectively.

(\*Corresponding Author Email: saman.abdanan@gmail.com)

divided into 24 regions. In each region, the  $L^*a^*b^*$  color values were measured using a Minolta colorimeter. Additionally, a RGB digital image was taken of each chart, and the R, G and B color values of the corresponding regions were measured using a Matlab program which computes the mean values for each color value in each region according to the 24 masks. In this study four models for the RGB to  $L^*a^*b^*$  transformation namely: linear, quadratic, artificial neural network (ANN), support vector regression (SVR) have been used.

**Results and discussion:** In the evaluation of the performance of the models, the support vector regression and neural network model stands out with an error of only 0.88 and 2.37, respectively. Leon et al. (2004) investigated some models for the RGB to  $L^*a^*b^*$  conversion. In the evaluation of the performance of the models, the neural network model showed an error of only 0.93%. In another research Yagzi et al. (2009) measured the  $L^*a^*b^*$  values of atlantic salmon fillets subjected to different electron beam doses (0, 1, 1.5, 2 and 3 kGy) using a Minolta CR-200 Chroma Meter and a machine vision system. For both Minolta and machine vision the  $L^*$  value increased and the  $a^*$  and  $b^*$  values decreased with increasing irradiation dose. However, the machine vision system showed significantly higher readings for  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  values than the Minolta colorimeter. According to the construction of these models, the correlation between measured and predicted color is well established; therefore, based on the promising obtained results from Computer vision, 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 based on a color digital camera. In order to show the capability of the proposed method, the color of an orange was measured using both a Minolta colorimeter and the studied approach. The colorimeter measurement was obtained by averaging 6 measurements in 6 different places of the surface of the orange, whereas the measurement using the digital color image was estimated by averaging all pixels of the surface image. The results are summarized in Fig. 2.



| Measurement Method   | $L^*$ | $a^*$ | $b^*$ |
|----------------------|-------|-------|-------|
| Minolta colorimeter  | 58.98 | 28.32 | 35.49 |
| Machine Vision (SVR) | 61.20 | 27.30 | 37.35 |
| Machine Vision (ANN) | 60.18 | 30.19 | 30.60 |

Fig. 2. Estimate of  $L^*a^*b^*$  values of an orange

**Key word:** Color, RGB,  $L^*a^*b^*$ , ANN, SVR

## اثر صمغ‌های دانه ریحان و گزانتان بر ویژگی‌های فیزیکی و رئولوژیکی سس مایونز کم‌چرب

سیما شمسایی<sup>۱</sup>، سید محمدعلی رضوی<sup>۲\*</sup>، بهاره عمادزاده<sup>۳</sup>، اسماعیل عطای صالحی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۴/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۴

### چکیده

در این تحقیق، اثر سطوح مختلف صمغ گزانتان و صمغ دانه ریحان به‌عنوان جایگزین‌های چربی در غلظت ۰/۴۵، ۰/۶ و ۰/۷۵ درصد بر خواص رئولوژیکی، پایداری امولسیون، پارامترهای رنگ و اندازه قطرات روغن سس مایونز کم‌چرب مورد بررسی قرار گرفت. خصوصیات جریان نمونه‌ها با استفاده از مدل‌های پاورلا، بینگهام، هرشل-بالکی و کاسون توصیف شد. نتایج نشان داد تمامی نمونه‌ها جزء سیالات غیرنیوتنی سودوپلاستیک می‌باشند با افزایش غلظت صمغ (گزانتان، ریحان و مخلوط گزانتان-ریحان) از ۰/۴۵ تا ۰/۷۵ درصد، شاخص رفتار جریان تمامی نمونه‌ها کاهش پیدا کرد، در حالی که ضریب قوام و ویسکوزیته ظاهری افزایش یافت. بیشترین ضریب قوام به نمونه محتوی ۰/۷۵ درصد صمغ گزانتان تعلق داشت، اما کمترین مقدار مربوط به نمونه تثبیت شده با ۰/۴۵ درصد صمغ دانه ریحان بود. تمام نمونه‌ها در طول نگهداری پایداری بالایی داشتند. امولسیون حاوی ۰/۴۵ درصد صمغ دانه ریحان پایین‌ترین اندازه قطرات روغن را داشت. سس مایونز تثبیت شده با ۰/۴۵ درصد صمغ گزانتان بیشترین پارامتر رنگی \*L را به خود اختصاص داد.

**واژه‌های کلیدی:** پردازش تصویر، جایگزین چربی، رئولوژی، سس مایونز، صمغ

### مقدمه

به وجود می‌آید. در واقع مایونز فرآورده غذایی است که به‌صورت امولسیون دائم روغن در آب بوده و دارای بو و مزه ملایم است. رنگ آن کرم تا زرد کم رنگ و pH آن بین ۴-۳/۶ بوده و نباید از ۴/۱ تجاوز نماید (استاندارد ایران، شماره ۲۴۵۴). اندازه قطرات روغن در مایونز بطور متوسط حدود ۲/۶۴ میکرون است. این قطرات به‌وسیله یک غشاء نازک با ضخامت تقریبی ۱۰۰-۲۰۰ انگسترم پوشیده شده‌اند (ترابی زاده، ۱۳۸۱).

در دهه‌های اخیر مصرف روغن و چربی‌ها افزایش قابل توجهی داشته است. از جمله دلایل این افزایش، مصرف برخی مواد غذایی است که برای ایجاد ویژگی‌های مناسب در آن‌ها از انواع روغن‌ها به میزان زیادی در فرمولاسیون یا تولید بکار می‌رود. مانند سس مایونز که در آن حداقل ۶۵ درصد روغن استفاده می‌شود. مصرف زیاد چربی‌ها و روغن‌ها در رژیم غذایی باعث بروز عوارض و بیماری‌هایی چون تصلب شرایین و نارسایی قلب حتی تا حد مرگ می‌شود (Birch و Lindley، ۱۹۸۷).

خوشبختانه در چند دهه اخیر تمایل زیادی برای مصرف روغن کمتر در رژیم غذایی بوجود آمده است (Bruhn و همکاران، ۱۹۹۲).

سس مایونز از جمله سس‌های امولسیونی است که سراسر دنیا مصرف فراوانی پیدا کرده است. این سس گذشته از طعم مطلوبی که به‌عنوان یک چاشنی در غذاهایی مانند انواع ساندویچ و سالادها پدید می‌آورد، بدلیل موادی مانند تخم‌مرغ و روغن که ترکیبات اصلی آن را تشکیل می‌دهند، نقش موثری در تامین مواد مغذی و انرژی لازم برای انسان دارد (Raghuber و همکاران، ۱۹۹۵). طبق تعریف استاندارد ایران، سس مایونز چاشنی است که از امولسیون شدن روغن های گیاهی خوراکی (حداقل ۶۶ درصد) در یک فاز مایع شامل سرکه

۱ و ۴- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران  
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد قوچان.  
۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.  
۳- استادیار، گروه نانوفناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع خراسان رضوی.  
(\*) نویسنده مسئول: (Email: s.razavi@um.ac.ir)

بنابراین موضوع جایگزین کردن بخشی از روغن با موادی که بتوانند همان نقش روغن را در ماده غذایی ایفا نمایند و تأثیری در خصوصیات ارگانولپتیکی ایجاد نکنند، ولی دارای کالری کمتری نیز باشند، مطرح می‌شود، که در این راستا تولید مایونز کم چرب یکی از این موارد جالب توجه می‌باشد (Laesson و Friberg, ۱۹۹۰).

صمغ‌ها، کلوئیدهای آبدوست، و یا هیدروکلوئیدها<sup>۱</sup>، پلیمرهای هیدروفیلی با وزن مولکولی بالا هستند که سال‌های متمادی است که به شکل ترشحات درختان و بوته‌ها، عصاره گیاهان و جلبک‌های دریایی، آرد دانه‌ها یا بذرها، لعاب‌های چسبناک حاصل از فرایندهای تخمیر و بسیاری از فراورده‌های طبیعی دیگر یافت می‌شوند (Glicksman, ۱۹۸۲). مطالعات نشان داده است یکی از خواص عملکردی برخی هیدروکلوئیدها خاصیت پایدارکنندگی - امولسیون‌کنندگی است بطوری که عموماً با افزایش ویسکوزیته و قوام فاز پیوسته از شکستن امولسیون جلوگیری می‌کنند. در حقیقت، ترکیبات مذکور اغلب با تشکیل لایه‌های بین سطحی قوی در اطراف ذرات فاز پراکنده (روغن) به‌عنوان پایدارکننده عمل می‌کنند (Dominic, ۱۹۸۹ و Anonymous, ۱۹۹۲). بنابراین صمغ‌ها یا هیدروکلوئیدها در فرمولاسیون انواع مایونز برای پایدارسازی امولسیون به دلیل کنترل قابلیت جریان، بهبود چسبندگی و پراکنده‌سازی مواد جامد یا ذرات ادویه در محصول مورد استفاده قرار می‌گیرند. عمدتاً برای این منظور از صمغ‌های گزانتان<sup>۲</sup>، گوار<sup>۳</sup>، کربوکسی‌متیل سلولز<sup>۴</sup> و لوبیای اقایا<sup>۵</sup> استفاده می‌شود (Ma و همکاران، ۱۹۹۵).

گیاه ریحان (*Ocimum bacilicum*) یک نوع از جنس اسیمم است. این جنس شامل ۱۵۰-۵۰ گونه است. این گیاه در مناطق گرمسیری جهان مانند آسیا، آفریقا و آمریکای جنوبی و مرکزی یافت شده است (رزمخوآه شربانی و همکاران، ۱۳۸۸). ریحان یکی از گیاهان بومی ایران است که بطور گسترده‌ای به‌عنوان یک گیاه دارویی استفاده می‌شود. این گیاه در کنار استفاده در پزشکی، در صنایع غذایی نیز کاربرد فراوانی دارد. ریحان یک منبع مشهور چاشنی محسوب می‌شود (نقیبی و همکاران، ۲۰۰۵). رضوی و همکاران (۲۰۰۸b) خصوصیات فیزیکومکانیکی دانه ریحان را بررسی کردند. پوسته بیرونی (موسیلژ) دانه ریحان وقتی در آب خیسانده می‌شود، سریعاً آب جذب کرده و بصورت یک توده متورم ژلاتینی قابل استخراج می‌شود (آزرمو و ساکوموتو، ۲۰۰۳). رضوی و همکاران (۲۰۰۸c) استخراج صمغ از دانه ریحان را با استفاده از روش رویه سطح پاسخ بهینه کردند. دانه ریحان حاوی مقادیر زیادی هیدروکلوئید

با خواص رئولوژیکی قابل توجه است که آن را با سایر هیدروکلوئید-های تجاری قابل مقایسه کرده‌است. این گیاه حاوی یک ساختار هتروپلی‌ساکاریدی است که شامل گلوکومانان، زایلان و گلوکان می‌باشد. رفتار جریان غلظت‌های مختلف صمغ دانه ریحان (۲-۰/۱ درصد) از نوع سودوپلاستیک بوده و از میان مدل‌های رئولوژیکی مستقل از زمان، مدل هرشل بالکی مناسب‌ترین مدل برای توصیف رفتار جریان آن معرفی شده است. وجود تنش تسلیم علاوه بر رفتار سودوپلاستیک صمغ دانه ریحان، بیانگر توانایی تعلیق ذرات توسط این هیدروکلوئید است که کاربرد آن را بعنوان یک پایدارکننده خوب در برخی فرمولاسیون‌های غذایی مانند مایونز و سس‌های سالاد ممکن می‌سازد. علاوه بر این صمغ دانه ریحان در غلظت‌های برابر دارای ویسکوزیته سرعت برشی صفر بسیار بیشتری نسبت به صمغ-های گوار و لوبیای اقایا (حدود ۲۰۰ برابر صمغ گوار و ۱۴۰۰ برابر صمغ لوبیای اقایا) بود. ویسکوزیته سرعت برشی صفر نشان‌دهنده توانایی محلول هیدروکلوئیدی در تعلیق ذرات، در یک فرمولاسیون غذایی نظیر سس‌های سالاد و مایونز است (حسینی پرور و همکاران، ۱۳۸۸).

صمغ گزانتان یک پلی‌ساکارید میکروبی است که خصوصیات رئولوژیکی ویژه‌ای دارد و در صنایع مختلف بعنوان عامل پایدارکننده، جایگزین چربی، سوسپانسیون‌کننده و قوام‌دهنده کاربردهای گسترده‌ای دارد. ساختار اصلی گزانتان شامل واحدهای gluco-β-D pyranosyl (1→4) است که در C-3 با گلوکز با یک زنجیره جانبی تری‌ساکارید باردار جایگزین شده است (Johnson و همکاران، ۱۹۷۵).

نیک‌نیا و همکاران (۱۳۸۸) در یک تحقیق تأثیر دو صمغ بومی ایران به نام‌های صمغ دانه ریحان و دانه مرو را در مقایسه با صمغ دانه گوار بر پایداری سس مایونز مطالعه نمودند. تمامی سس‌های مایونز طبیعتاً شل‌شونده با برش داشتند و افزودن صمغ‌ها باعث افزایش ضریب قوام در این نمونه‌ها شد. نمونه‌های تثبیت شده با هر سه صمغ از پایداری بالایی (۸۵/۶۳۵-۹۹/۸۸۹ درصد) برخوردار بودند. پس از ۳۰ روز نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، پدیده خامه‌ای شدن در هیچ کدام از نمونه‌ها دیده نشد. کمترین قطر متوسط ذرات چربی مربوط به سس مایونز حاوی ۰/۵ درصد از مخلوط صمغ-های ریحان-گوار به نسبت ۵۰/۵۰ بود. سس‌های مایونز حاوی صمغ دانه ریحان دارای بالاترین امتیاز بو و کیفیت مالش‌پذیری بودند، در حالی که بیشترین امتیاز طعم به نمونه تثبیت شده با غلظت ۰/۳ درصد ترکیب دو صمغ گوار-دانه ریحان با نسبت ۵۰/۵۰ اختصاص داشت. نتایج بهینه یابی نشان داد که غلظت ۰/۵ درصد ترکیب سه صمغ گوار-مرو-ریحان با نسبت برابر ۳۳/۳۳ درصد، مطلوب‌ترین فرمول است. Ma و همکاران (۱۹۹۵) خصوصیات رئولوژیکی مایونز را در غلظت‌های مختلف گزانتان و روغن بررسی کردند. پردازش داده‌ها با

- 1 Gums, hydrocolloids
- 2 Xanthan
- 3 Guar
- 4 CMC
- 5 Locust bean gum

غذایی نیمه جامد یا سیال است که از امولسیون شدن جانشین‌های چربی و روغن‌های گیاهی به همراه سرکه و افزودنی‌های دیگر آماده می‌شود که دارای انرژی و چربی کمتر از سس مایونز و سس‌های سالاد می‌باشد. سس‌های مایونز رژیمی خود به دو گروه سس با چربی کمتر (کاهش یافته) که میزان چربی در آن نسبت به ۶۶ درصد در مایونز معمولی حداقل ۲۵ درصد کاهش می‌یابد و سس مایونز کم چرب که میزان چربی در این سس نسبت به ۶۶ درصد در مایونز معمولی ۵۰ درصد کاهش یافته است، تقسیم می‌شوند. بنابراین سس تولیدی در این پژوهش بر اساس استاندارد ایران به شماره ۲۴۶۴ از نوع مایونز کم چرب می‌باشد.

جدول ۱- فرمولاسیون سس مایونز کم‌چرب

| نوع ترکیبات | مقدار بر حسب درصد |
|-------------|-------------------|
| روغن        | ۳۳                |
| تخم مرغ     | ۸                 |
| سرکه        | ۱۳                |
| شکر         | ۳/۵               |
| نمک         | ۱/۵               |
| پودر خردل   | ۰/۳               |
| اسید سیتریک | ۰/۱۳              |
| بنزوات سدیم | ۰/۰۷              |
| آب          | بر اساس میزان صمغ |
| صمغ         | ۰/۷۵-۰/۴۵         |

### آزمایشات فیزیکی

#### پایداری

نمونه‌های مایونز در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. پایداری امولسیون (ES)<sup>۱</sup> هر نمونه با استفاده از معادله ذیل تعیین گردید (نیک نیا و همکاران، ۲۰۰۹):

$$(1) \quad (\text{حجم کل} / \text{حجم امولسیون باقی‌مانده}) = \% \text{ پایداری امولسیون}$$

#### اندازه ذرات

توزیع اندازه ذرات مایونز با استفاده از دستگاه انکسار نور لیزر (Fritsch Analysette 22، آلمان) تعیین شد (Liu و همکاران، ۲۰۰۷). با این آزمون قطر متوسط ذرات، مساحت سطح ویژه و پهنای توزیع اندازه ذرات (اسپان) محاسبه گردید.

#### آزمون‌های رئولوژیکی

برای اندازه‌گیری خواص رئولوژیکی پایای مستقل از زمان نمونه‌ها از ویسکومتر دورانی بوهلین (UK, Malvern, Visco 88)

مدل هرشل بالکی نشان داد که غلظت روغن و صمغ گزانتان بر شاخص رفتار جریان، ضریب قوام و تنش تسلیم تاثیرگذار است. Barbosa-Canovas و همکاران (۱۹۹۵) خواص رئولوژیکی سه نمونه مایونز را با مقادیر مختلف روغن و مقادیر مختلف گزانتان بررسی و بیان نمودند که با افزایش غلظت روغن و گزانتان مدول ذخیره، تنش تسلیم و ویسکوزیته کمپلکس افزایش می‌یابد Stern و همکاران (۲۰۰۱) خصوصیات رئولوژیکی و حسی مایونز را بررسی کردند. مقدار تنش تسلیم با چندین خصوصیت حسی در ارتباط بود. مقدار تنش تسلیم و پذیرش بافت بطور معنی‌داری با پذیرش طعم همبستگی داشت. Mancini و همکاران (۲۰۰۲) تاثیر غلظت و وزن مولکولی آلزینات را روی خصوصیات عملکردی مایونز بررسی کردند. قدرت امولسیون نمونه‌های آلزینات با غلظت ۰/۵ و ۰/۸ درصد بطور معنی‌داری از نمونه شاهد بیشتر بود.

دستیابی به منابع هیدروکلوئید جدید بومی به‌عنوان جایگزینی مناسب برای هیدروکلوئیدهای تجاری ضروری می‌باشد. هدف از این تحقیق استفاده از صمغ دانه ریحان به‌عنوان یک صمغ بومی و جایگزین چربی در فرمولاسیون مایونز کم‌چرب بوده است. نقش ویژگی‌های فیزیکی، حسی و رئولوژیکی در تولید مایونز بسیار مهم می‌باشد، از این‌رو در این تحقیق ضمن تولید مایونز با استفاده از صمغ بومی، خصوصیات رئولوژیکی، پایداری امولسیون، توزیع اندازه ذرات امولسیون و پارامترهای رنگ نمونه‌های سس مایونز کم چرب به‌عنوان تابعی از نوع صمغ (دانه ریحان، گزانتان و مخلوط دانه ریحان-گزانتان) و غلظت صمغ مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

#### مواد

مواد اولیه شامل روغن، شکر، نمک، تخم‌مرغ، اسید سیتریک، سرکه، پودر خردل، بنزوات سدیم، صمغ دانه ریحان و گزانتان بود. اسید سیتریک از شرکت سیتروکیم کرمانشاه و بنزوات سدیم از شرکت اینزاین چین، صمغ گزانتان از شرکت siqma، روغن مایع از شرکت تولیدی تینا، شکر، نمک، تخم‌مرغ و سرکه از یکی از سوپر مارکت‌های شهر مشهد و پودر خردل از یکی از عطاری‌های شهر مشهد به مقدار مورد نیاز تهیه شدند. جهت استخراج صمغ، دانه ریحان از یک عطاری تهیه شد و طبق روش رضوی و همکاران (۲۰۰۸) صمغ آنها استخراج شد.

#### تولید مایونز کم‌چرب

برای تولید سس مایونز از فرمول ذکر شده در جدول (۱) استفاده شد. بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۴۶۴، سس‌های مایونز به انواع رژیمی و معمولی تقسیم می‌شوند. سس مایونز رژیمی فراورده

رایت (۱۹۸۳) انجام شد. تکرارها با استفاده از آزمون LSD در سطح آماری ۱٪ مورد مقایسه قرار گرفتند.

## جدول ۲- تیمارهای آزمایش بر اساس درصد جایگزینی و غلظت

صمغ (تمام متغیرها بر حسب درصد).

| تیمار | درصد جایگزینی |     | C%   |
|-------|---------------|-----|------|
|       | RSG           | XG  |      |
| ۱     | ۱۰۰           | ۰   | ۰/۴۵ |
| ۲     | ۱۰۰           | ۰   | ۰/۶۰ |
| ۳     | ۱۰۰           | ۰   | ۰/۷۵ |
| ۴     | ۰             | ۱۰۰ | ۰/۴۵ |
| ۵     | ۰             | ۱۰۰ | ۰/۶۰ |
| ۶     | ۰             | ۱۰۰ | ۰/۷۵ |
| ۷     | ۵۰            | ۵۰  | ۰/۴۵ |
| ۸     | ۵۰            | ۵۰  | ۰/۶۰ |
| ۹     | ۵۰            | ۵۰  | ۰/۷۵ |

RSG، صمغ دانه ریحان؛ XG، صمغ گزانتان و C، غلظت صمغ

## نتایج و بحث

### ویژگی‌های رئولوژیکی

شکل ۱ رفتار جریان برخی نمونه‌های سس مایونز کم چرب را بر حسب تنش برشی- درجه برش را نشان می‌دهد. از آنجایی که رابطه بین تنش برشی- درجه برش غیرخطی است، بنابراین نمونه‌های سس مایونز از نظر رئولوژیکی جزء سیالات غیرنیوتنی طبقه‌بندی می‌شوند. در این تحقیق از مدل‌های قانون توان، هرشل-بالکلی، بینگهام و کاسون برای توصیف رفتار جریان رئولوژیکی مستقل از زمان نمونه‌ها استفاده شد. نتایج بدست آمده از مدل‌سازی (جدول ۳ و ۴) نشان داد در بین مدل‌های ذکر شده، مدل قانون توان به دلیل ضریب تعیین ( $R^2$ ) بالا (۰/۹۹۹۵-۰/۹۹۹۵) قادر به برازش بهتر داده‌های تنش برشی- درجه برش بوده است (جدول ۳)، اگر چه سایر مدل‌ها نیز توانستند بخوبی رفتار جریان را توصیف کنند (جدول ۴).

مجهز به سیرکولاتور حرارتی استفاده گردید. با توجه به ویسکوزیته نمونه‌ها از اسپیندل باب و کاپ  $C_{30}$  جهت انجام آزمون‌ها استفاده شد. دمای هر آزمون  $25 \pm 0.2$  درجه سانتی‌گراد و درجه برش در دامنه (s)  $14-300$  تنظیم گردید.

به منظور توصیف رفتار جریان نمونه‌های مایونز و بدست آوردن پارامترهای رئولوژیکی از چهار مدل مشهور مستقل از زمان قانون توان (۱)، بینگهام (۲)، هرشل-بالکلی (۳) و کاسون (۴) به شرح ذیل استفاده شد (رضوی و اکبری، ۱۳۸۸):

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

$$\tau = \mu_p \dot{\gamma} + \tau_0 \quad (2)$$

$$\tau = k\dot{\gamma}^n + \tau_0 \quad (3)$$

$$\sqrt{\tau} = \sqrt{\tau_0} + k_c \sqrt{\dot{\gamma}} \quad (4)$$

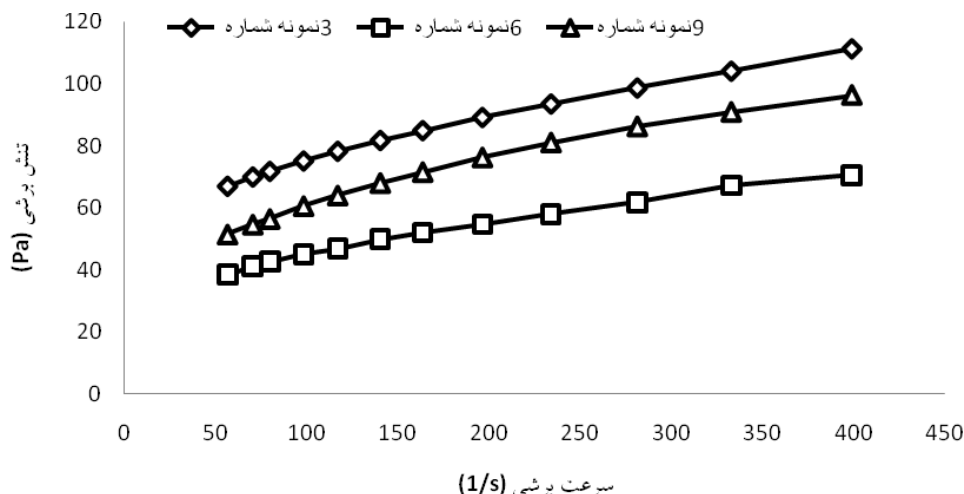
در مدل‌های فوق  $k$  ضریب قوام ( $\text{Pa.s}^n$ )،  $n$  شاخص رفتار جریان،  $\tau_0$  تنش تسلیم ( $\text{Pa}$ )،  $\mu_p$  ویسکوزیته پلاستیک بینگهام ( $\text{Pa.s}$ ) و  $k_c$  ثابت مدل کاسون ( $\mu_c = k_c^2$ ) ویسکوزیته پلاستیک کاسون می‌باشد.

### سنجش رنگ

برای ارزیابی رنگ نمونه‌های سس مایونز از روش پردازش تصویر استفاده شد. تمام آنچه که در تصویر وجود دارد، مولفه‌های رنگی است که در پیکسل‌های تصویر ذخیره شده است. بر این اساس هر رنگ را می‌توان با ترکیب سه رنگ اصلی قرمز ( $R$ )، سبز ( $G$ ) و آبی ( $B$ ) بازسازی کرد. جهت پردازش تصاویر در اتاقک پردازش تصویر تحت شرایط معین از نمونه‌ها عکس‌برداری شد و تصاویر بدست آمده با استفاده از نرم افزار Imagej 1.42e به وسیله برنامه Color\_Space\_Converter پردازش شده و پارامترهای  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  تصاویر استخراج گردید.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق به منظور بررسی تاثیر هیدروکلوئیدهای صمغ دانه ریحان، گزانتان و مخلوط آنها در سه سطح غلظتی (۰/۴۵، ۰/۶۰ و ۰/۷۵) درصد بر خصوصیات مایونز کم چرب از طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید (جدول ۲). آزمایشات شامل ویژگی‌های رئولوژیکی، پارامترهای توزیع اندازه ذره، پایداری و آزمون‌های رنگ مایونز کم چرب در دو تکرار انجام شدند. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار مینی تب (نسخه ۱، ۱۵) و برازش مدل‌های رئولوژیکی با نرم‌افزار اسلاید



شکل ۱- رابطه تنش برشی با درجه برش نمونه‌های سس مایونز کم چرب (◇، نمونه شماره ۳؛ △، نمونه شماره ۶؛ □، نمونه شماره ۹)

### شاخص رفتار جریان (n)

همانطور که در جداول ۳ و ۴ مشاهده می‌شود، شاخص رفتار جریان مدل قانون توان و مدل هرشل-بالکلی تمامی نمونه‌ها کمتر از ۱ بوده است که نشان‌دهنده رفتار شل‌شونده با برش (سودوپلاستیک) مایونزها می‌باشد. این خاصیت باعث بهبود پراکندگی ذرات روغن در فاز مایع شده و از بهم چسبیدن ذرات روغن و دو فاز شدن سس جلوگیری می‌نماید (طاهریان و همکاران ۲۰۰۷، کوچکی و همکاران ۲۰۰۹، نیک نیا و همکاران ۲۰۰۹). در این تحقیق مقدار شاخص رفتار جریان مدل قانون توان و مدل هرشل-بالکلی به ترتیب در دامنه ۰/۵۸۴-۰/۲۳۸ و ۰/۶۹۲-۰/۳۵۰ بوده است. مقدار پایین شاخص رفتار جریان در سس‌های مایونز مورد بررسی احتمالاً به دلیل حضور صمغ‌ها به عنوان جایگزین چربی می‌باشد که موجب خاصیت شل‌شوندگی قوی نمونه‌ها شده است.

با ملاحظه جداول ۳ و ۴ می‌توان دریافت که شاخص رفتار جریان تمام نمونه‌ها با افزایش غلظت صمغ (گزانتان، ریحان و ترکیب گزانتان و ریحان) از ۰/۴۵ الی ۰/۷۵ درصد کاهش پیدا کرده، اگرچه این اختلاف در نمونه‌های حاوی صمغ گزانتان و مخلوط هر دو صمغ گزانتان و دانه ریحان معنی‌دار نبود ( $p > 0.01$ ). مقایسه نمونه‌های حاوی صمغ دانه ریحان با مایونزهای حاوی مخلوط هر دو صمغ نیز نشان می‌دهد که نمونه‌های حاوی مخلوط هر دو صمغ دانه ریحان و صمغ گزانتان میزان  $n$  کمتری در هر سه غلظت نسبت به نمونه‌های حاوی صمغ دانه ریحان دارا می‌باشند. کمترین شاخص رفتار جریان مدل قانون توان برای نمونه حاوی غلظت ۰/۷۵ صمغ گزانتان بدست آمد، درحالی‌که کمترین شاخص رفتار جریان مدل هرشل-بالکلی به مایونز تهیه شده با غلظت ۰/۷۵ درصد مخلوط صمغ‌ها (صمغ دانه ریحان- صمغ گزانتان) اختصاص داشت (جدول ۴).

جدول ۴ - پارامترهای مدل قانون توان (ضریب قوام ( $k$ ))، شاخص رفتار جریان ( $n$ ) و ویسکوزیته ظاهری ( $\eta_a$  در درجه برش  $2 \text{ s}^{-1}$ ) بدست آمده

| برای برای نمونه‌های سس مایونز کم چرب <sup>a</sup> |     |     |      |                      |                     |        |                        |
|---------------------------------------------------|-----|-----|------|----------------------|---------------------|--------|------------------------|
| تیمار                                             | XG  | RSG | C%   | $k(\text{Pa s}^n)$   | $n$                 | $R^2$  | $\eta_a (\text{Pa s})$ |
| ۱                                                 | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۴۵ | ۱۴/۲۳۸ <sup>c</sup>  | ۰/۳۷۷ <sup>bd</sup> | ۰/۹۹۱۵ | ۰/۹۵۸ <sup>c</sup>     |
| ۲                                                 | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۶۰ | ۱۷/۱۴۷ <sup>b</sup>  | ۰/۳۷۳ <sup>bd</sup> | ۰/۹۹۴۷ | ۱/۲۰۳ <sup>b</sup>     |
| ۳                                                 | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۷۵ | ۲۶/۲۱۰ <sup>a</sup>  | ۰/۲۳۸ <sup>d</sup>  | ۰/۹۹۹۵ | ۱/۵۱۳ <sup>a</sup>     |
| ۴                                                 | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۴۵ | ۰/۴۲۳ <sup>h</sup>   | ۰/۵۶۶ <sup>a</sup>  | ۰/۹۹۵۹ | ۰/۲۷۰ <sup>f</sup>     |
| ۵                                                 | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۶۰ | ۲/۲۶۸ <sup>g</sup>   | ۰/۵۸۴ <sup>a</sup>  | ۰/۹۹۵۷ | ۰/۳۰۳ <sup>ef</sup>    |
| ۶                                                 | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۷۵ | ۶/۸۳۹ <sup>e</sup>   | ۰/۳۷۰ <sup>b</sup>  | ۰/۹۹۲۷ | ۰/۶۸۶ <sup>d</sup>     |
| ۷                                                 | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۴۵ | ۸/۰۲۶ <sup>e</sup>   | ۰/۳۷۳ <sup>b</sup>  | ۰/۹۹۵۳ | ۰/۵۷۸ <sup>de</sup>    |
| ۸                                                 | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۶۰ | ۱۱/۰۸۲ <sup>d</sup>  | ۰/۳۳۴ <sup>bd</sup> | ۰/۹۹۵۷ | ۰/۹۳۱ <sup>c</sup>     |
| ۹                                                 | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۷۵ | ۱۵/۷۸۷ <sup>bc</sup> | ۰/۳۰۴ <sup>bd</sup> | ۰/۹۹۵۵ | ۱/۱۷۱ <sup>b</sup>     |
| LSD <sup>b</sup>                                  |     |     |      | ۱/۹۴۱                | ۰/۱۰۲               |        | ۰/۱۵۷                  |

<sup>a</sup> اعداد میانگین دو تکرار می‌باشد؛ <sup>b</sup> برای مقایسه میانگین‌ها در هر ستون در سطح ۰/۰۱ میانگین‌ها در هر ستون که دارای حروف مشابه هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD می‌باشند

جدول ۴- پارامترهای مدل‌های هرشل- بالکی، بینگهام و کاسون بدست آمده برای نمونه‌های سس مایونز کم‌چرب<sup>a</sup>

| تیمار            | مدل هرشل- بالکی |                    |                      | مدل بینگهام    |                    |                    | مدل کاسون      |                     |                     |
|------------------|-----------------|--------------------|----------------------|----------------|--------------------|--------------------|----------------|---------------------|---------------------|
|                  | R <sup>2</sup>  | nH                 | kH                   | R <sup>2</sup> | μB                 | τ <sub>0B</sub>    | R <sup>2</sup> | μC                  | τ <sub>0C</sub>     |
| ۱                | ۰/۹۲۳۴          | ۰/۴۷۱ <sup>a</sup> | ۲/۸۳۹ <sup>cde</sup> | ۰/۹۲۵۲         | ۰/۱۱ <sup>cd</sup> | ۳۴/۸۰ <sup>c</sup> | ۰/۹۷۲۹         | ۰/۰۳۸ <sup>b</sup>  | ۲۵/۱۹۰ <sup>d</sup> |
| ۲                | ۰/۹۸۹۸          | ۰/۴۳۷ <sup>a</sup> | ۴/۶۸۳ <sup>ab</sup>  | ۰/۹۵۳۵         | ۰/۱۳ <sup>b</sup>  | ۴۱/۳۷ <sup>b</sup> | ۰/۹۷۵۴         | ۰/۰۴۳ <sup>a</sup>  | ۳۰/۱۲۹ <sup>b</sup> |
| ۳                | ۰/۹۹۹۲          | ۰/۴۱۸ <sup>a</sup> | ۴/۹۸۸ <sup>ab</sup>  | ۰/۹۵۸۸         | ۰/۱۵ <sup>a</sup>  | ۵۶/۵۴ <sup>a</sup> | ۰/۹۹۴۹         | ۰/۰۴۶ <sup>ab</sup> | ۴۳/۲۸۱ <sup>a</sup> |
| ۴                | ۰/۷۶۵۴          | ۰/۶۹۳ <sup>a</sup> | ۰/۱۸۵ <sup>f</sup>   | ۰/۵۲۳۹         | ۰/۰۶ <sup>f</sup>  | ۲/۳۴ <sup>e</sup>  | ۰/۸۲۸۳         | ۰/۰۱۴ <sup>c</sup>  | ۱/۰۵۸ <sup>h</sup>  |
| ۵                | ۰/۹۶۵۶          | ۰/۵۹۱ <sup>a</sup> | ۰/۴۰۵ <sup>f</sup>   | ۰/۵۲۳۴         | ۰/۰۹ <sup>e</sup>  | ۵/۵۴ <sup>e</sup>  | ۰/۵۲۲۹         | ۰/۰۱۶ <sup>c</sup>  | ۳/۲۷۴ <sup>g</sup>  |
| ۶                | ۰/۸۸۷۶          | ۰/۳۶۴ <sup>a</sup> | ۱/۸۹۹ <sup>e</sup>   | ۰/۸۸۷۱         | ۰/۱۳ <sup>b</sup>  | ۲۲/۴۷ <sup>d</sup> | ۰/۹۳۸۵         | ۰/۰۴۸ <sup>ab</sup> | ۱۳/۳۱ <sup>f</sup>  |
| ۷                | ۰/۶۷۸۴          | ۰/۵۳۰ <sup>a</sup> | ۲/۰۲ <sup>de</sup>   | ۰/۹۶۹۳         | ۰/۱۰ <sup>de</sup> | ۲۰/۰۶ <sup>d</sup> | ۰/۹۸۲۸         | ۰/۰۴۴ <sup>ab</sup> | ۱۲/۴۹ <sup>f</sup>  |
| ۸                | ۰/۷۷۴۵          | ۰/۴۸۱ <sup>a</sup> | ۳/۸۲۱ <sup>bc</sup>  | ۰/۷۷۴۰         | ۰/۱۰ <sup>d</sup>  | ۳۵/۴۳ <sup>c</sup> | ۰/۹۸۴۳         | ۰/۰۵۲ <sup>ab</sup> | ۲۱/۶۱۴ <sup>e</sup> |
| ۹                | ۰/۹۲۱۳          | ۰/۳۴۵ <sup>a</sup> | ۵/۳۵۵ <sup>a</sup>   | ۰/۷۰۷۰         | ۰/۱۲ <sup>bc</sup> | ۴۵/۱۹ <sup>b</sup> | ۰/۹۷۳۹         | ۰/۰۵۸ <sup>a</sup>  | ۳۷/۹۴۷ <sup>c</sup> |
| LSD <sup>b</sup> | ۰/۸۸            | ۱/۴۹۰              | ۶/۵۶۲                | ۰/۱۱           | ۴/۸۴۲              | ۰/۱۸               | ۱/۰۹۴          | ۰/۰۱۸               | ۱/۰۹۴               |

<sup>a</sup> اعداد میانگین دو تکرار می باشد؛ <sup>b</sup> برای مقایسه میانگین‌ها در هر ستون در سطح ۰/۰۱ میانگین‌ها در هر ستون که دارای حروف مشابه هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD می‌باشند

برای ایجاد ویسکوزیته بالا و احساس دهانی مناسب و دلخواه می‌بایست از صمغ‌هایی استفاده نمود که ضریب قوام بالا و شاخص رفتار جریان پایینی دارند ( Ezidoro و همکاران، ۲۰۰۷). تمام نمونه‌های تهیه شده در این تحقیق n کمتر از ۰/۶ داشتند، در نتیجه از این نظر مطلوب بودند. اندیس رفتار جریان امولسیون‌ها را می‌توان با اندازه قطرات روغن، توزیع اندازه ذرات و خاصیت کلوئیدی فاز پیوسته مرتبط دانست. بررسی خواص رئولوژیکی مایونز و در کل امولسیون‌های روغن در آبی که با استفاده از پلی‌ساکاریدها تثبیت شده‌اند، نشان داده است که این سیستم‌ها رفتار سودوپلاستیک و شل‌شونده با درجه برش دارند (Shyvlav and Swan Line، ۲۰۰۴، Ezidoro و همکاران، ۲۰۰۷، Sykora و همکاران، ۲۰۰۷، Koocheki و همکاران، ۲۰۰۹، Nor Hayati و همکاران، ۲۰۰۸ و Niknia و همکاران، ۲۰۰۹).

#### ضریب قوام (k)

با افزایش غلظت صمغ‌های مورد بررسی در تمام مایونزها ضریب قوام افزایش یافت (جدول ۳ و ۴). این نتایج مشابه سایر نتایج بدست آمده توسط محققین از جمله نیک نیا و همکاران (۲۰۰۹)، کوچکی و همکاران (۲۰۰۹)، Sun و همکاران (۲۰۰۷)، Mandala و همکاران (۲۰۰۴) و Ibanoglu (۲۰۰۲) می‌باشد. در این پژوهش، بیشترین ضریب قوام در فرمول تولیدی با غلظت ۰/۷۵ درصد صمغ گزانتان مشاهده شد، در حالیکه کمترین مقدار به فرمول دارای ۰/۴۵ درصد صمغ دانه ریحان تعلق داشت (جدول ۳). در مدل هرشل- بالکی بیشترین و کمترین میزان k به ترتیب به مایونز تهیه شده با ۰/۷۵ درصد مخلوط صمغ دانه ریحان- صمغ گزانتان و ۰/۴۵ درصد صمغ دانه ریحان تعلق گرفت (جدول ۴). بطور کلی نمونه‌های حاوی صمغ

دانه ریحان ضریب قوام کمتری نسبت به نمونه‌های حاوی صمغ دانه گزانتان داشتند.

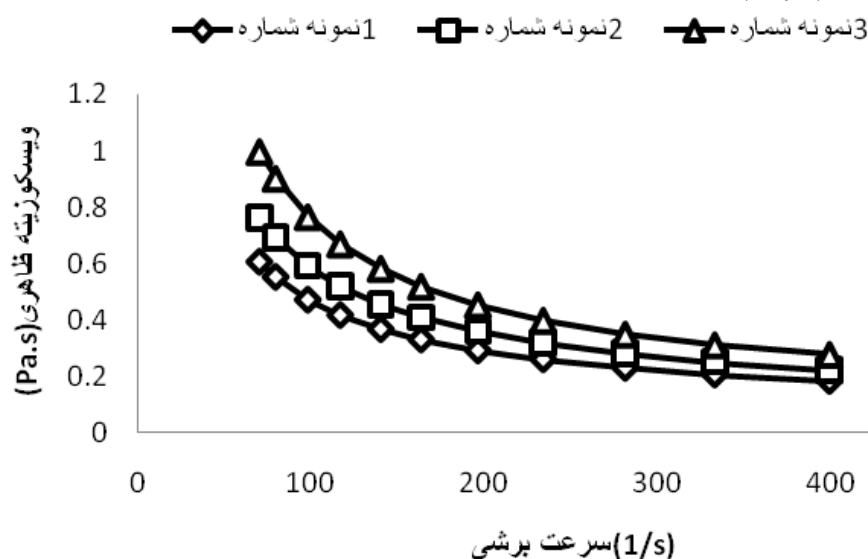
#### ویسکوزیته ظاهری (η<sub>a</sub>)

رابطه بین ویسکوزیته ظاهری و درجه برش نمونه‌های سس مایونز کم‌چرب در شکل ۲ نشان داده شده است. با افزایش درجه برش در تمام نمونه‌ها کاهش ویسکوزیته ظاهری مشاهده شد که تاییدکننده رفتار غیرنیوتنی شل‌شونده با برش است. Mandala و همکاران (۲۰۰۴) و Ibanoglu (۲۰۰۲) نیز نتایج مشابهی برای سس سفید پایدار شده با گزانتان و صمغ عربی گزارش کردند. همانطور که در جدول ۳ ملاحظه می‌شود، ویسکوزیته ظاهری مایونزها با افزایش غلظت صمغ افزایش یافت که این افزایش در نمونه‌های ۴ و ۵ معنی‌دار نبود (p > ۰/۰۱). شدت تغییرات ویسکوزیته ظاهری سس‌ها با تغییر درجه برش نیز با افزایش غلظت هیدروکلوئید افزایش یافت که ناشی از خاصیت سودوپلاستیسته قوی صمغ‌های مورد استفاده است (شکل ۲). در این تحقیق بیشترین ویسکوزیته ظاهری در نمونه ۳ یعنی مایونز تهیه شده با غلظت ۰/۷۵ درصد صمغ گزانتان مشاهده شد، در حالیکه کمترین ویسکوزیته ظاهری مربوط به نمونه ۴ یعنی مایونز تهیه شده با ۰/۴۵ درصد صمغ دانه ریحان بود (جدول ۳).

#### ویسکوزیته پلاستیک

نتایج نشان داد با افزایش غلظت صمغ میزان ویسکوزیته پلاستیک بینگهام (μB) افزایش یافت، اگرچه این افزایش تنها در نمونه‌های ۳، ۴ و ۵ معنی‌دار بود (p < ۰/۰۵). بیشترین مقدار ویسکوزیته بینگهام مربوط به مایونز تهیه شده با ۰/۷۵ درصد صمغ گزانتان و همچنین کمترین مقدار مربوط به مایونز حاوی ۰/۴۵ درصد

صمغ دانه ریحان می‌باشد (جدول ۴).



شکل ۲- اثر سرعت برشی بر ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های مایونز کم چرب (◇، نمونه شماره ۱؛ □، نمونه شماره ۲؛ △، نمونه شماره ۳)

ذرات، اسپان و مساحت سطح ویژه نمونه‌های سس مایونز آورده شده است. با ملاحظه نتایج می‌توان دریافت افزایش غلظت صمغ از ۰/۴۵ تا ۰/۷۵ درصد موجب افزایش اندازه ذرات و عدد اسپان سس مایونز شده است، در حالی که مساحت سطح ویژه سایر نمونه‌ها کاهش پیدا کرد. بر خلاف نتایج بدست آمده، نیک‌نیا و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که افزایش غلظت صمغ (گوار، دانه ریحان و دانه مرو) سبب کاهش اندازه ذرات و افزایش مساحت سطح ویژه سس مایونز معمولی می‌گردد، ولی در اکثر موارد تغییر معنی‌داری در مقدار اسپان مشاهده نشد. از این نتایج می‌توان دریافت افزایش غلظت صمغ ریحان تأثیری بر یکنواختی ذرات در سس مایونز ندارد. نتایج تحقیق کوچکی و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان داد که افزایش غلظت صمغ قدومه شیرازی سبب کاهش اندازه ذرات امولسیون روغن ذرت در آب می‌شود. نورحیاتی و همکاران (۲۰۰۸) اثر صمغ‌های گزانتان، کربوکسی‌متیل سلولز، گوار، لوبیای افاقیا و عربی را بر ثبات امولسیون مایونز مدل مطالعه کردند و مشاهده نمودند که افزودن این صمغ‌ها سبب ایجاد امولسیونی با اندازه ذرات کوچکتر می‌شود. از طرف دیگر نتایج تحقیق Lorenzo و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد افزایش غلظت مخلوط‌های مختلف گوار - گزانتان تأثیری بر روی توزیع اندازه ذرات نداشت. کمترین مقدار قطر متوسط (۲ میکرومتر) مربوط به فرمول ۰/۴۵ درصد صمغ دانه ریحان می‌باشد (جدول ۵). این مسئله می‌تواند به دلیل ویسکوزیته کمتر نمونه‌های حاوی صمغ ریحان نسبت به نمونه‌های تثبیت شده با صمغ گزانتان باشد که باعث بهبود عملکرد دستگاه هموژنایزر و در نتیجه تولید امولسیونی با اندازه ذرات کوچکتر

نتایج مدل کاسون هم نشان داد که با افزایش غلظت صمغ از ۰/۴۵ تا ۰/۷۵ درصد، میزان ویسکوزیته پلاستیک کاسون ( $\mu_c$ ) افزایش می‌یابد. با ملاحظه جدول ۴ می‌توان دریافت که بیشترین مقدار ویسکوزیته پلاستیک کاسون به نمونه تهیه شده با ۰/۷۵ درصد مخلوط صمغ‌ها و کمترین مقدار آن به مایونز تهیه شده با ۰/۴۵ درصد صمغ دانه ریحان تعلق داشت، اگرچه افزایش مقدار ویسکوزیته در نمونه‌های ۷، ۸ و ۹ معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۴).

#### تنش تسلیم

بر اساس نتایج بدست آمده، با افزایش غلظت صمغ میزان تنش تسلیم هرشل - بالکی ( $\tau_{0H}$ )، تنش تسلیم بینگهام ( $\tau_{0B}$ ) و تنش تسلیم کاسون ( $\tau_{0C}$ ) افزایش یافت (جدول ۴). بیشترین مقدار تنش تسلیم مربوط به نمونه ۳ یعنی مایونز تهیه شده با ۰/۷۵ درصد صمغ دانه گزانتان و کمترین مقدار به نمونه ۴ یعنی مایونز تهیه شده با ۰/۴۵ درصد صمغ دانه ریحان تعلق گرفت، هرچند افزایش میزان تنش تسلیم با توجه به مدل هرشل بالکی در نمونه‌های ۴ و ۵ معنی‌دار نمی‌باشد. بر طبق مدل کاسون، در همه مایونزهای تولیدی از جمله نمونه‌های حاوی صمغ گزانتان، صمغ دانه ریحان و نمونه‌های حاوی مخلوط صمغ دانه ریحان - صمغ گزانتان، افزایش غلظت صمغ سبب افزایش معنی‌دار در مقدار تنش تسلیم شد (جدول ۴).

#### پارامترهای توزیع اندازه ذرات

در جدول ۵ نتایج پارامترهای توزیع اندازه بر حسب قطر متوسط

در طی هموژنیزاسیون می‌تواند جذب پروتئین را روی سطح ذرات روغن افزایش داده و باعث تشکیل ذرات ریز در امولسیون شود. این امر احتمالاً بدین دلیل است که با افزایش ویسکوزیته فاز پراکنده، زمان لازم برای جذب پروتئین فراهم شده و در نتیجه ذرات روغن تثبیت و از ادغام شدن قطرات جلوگیری می‌شود (Makri و دوکاستاکیس، ۲۰۰۶).

شده است (نیک نیا و همکاران، ۲۰۰۹). نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد که صمغ دانه ریحان دارای درصدی پروتئین است (رضوی و همکاران، ۲۰۰۸) که این پروتئین ممکن است دارای خاصیت امولسیفایری باشد. این خصوصیت سبب کاهش کشش بین سطحی و نهایتاً کاهش اندازه ذرات در سس مایونز می‌شود. بر اساس اظهار Papalampr و همکاران (۲۰۰۵) افزودن صمغ گزانتان به امولسیون

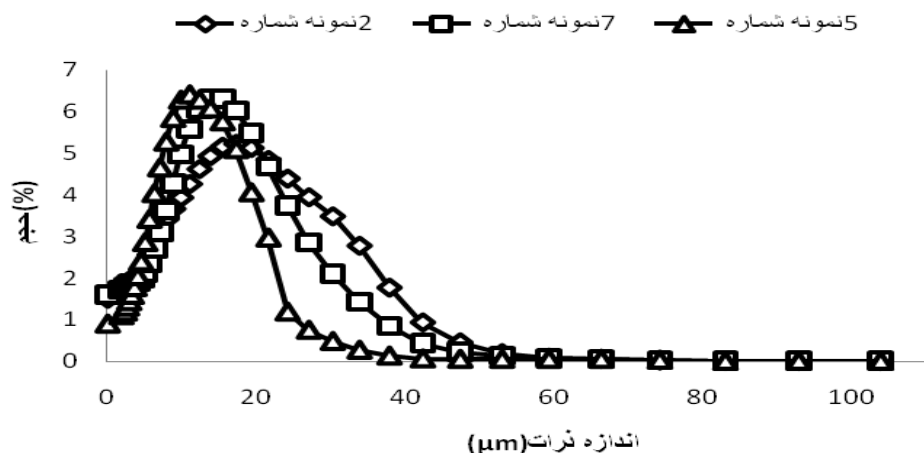
جدول ۵- پارامترهای توزیع اندازه ذرات (قطر میانگین، اسپان و مساحت سطح ویژه) نمونه‌های مایونز کم‌چرب<sup>a</sup>

| تیمار            | XG  | RSG | C    | قطر میانگین        | اسپان              | مساحت سطح ویژه      |
|------------------|-----|-----|------|--------------------|--------------------|---------------------|
| ۱                | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۴۵ | ۳/۹۶ <sup>c</sup>  | ۱/۸۱ <sup>b</sup>  | ۱/۳۰۸ <sup>bc</sup> |
| ۲                | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۶۰ | ۷/۲۵ <sup>ab</sup> | ۲/۲۷ <sup>a</sup>  | ۱/۲۲۶ <sup>cd</sup> |
| ۳                | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۷۵ | ۸/۲۵ <sup>a</sup>  | ۲/۱۴ <sup>ab</sup> | ۱/۱۸۸ <sup>d</sup>  |
| ۴                | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۴۵ | ۲/۰ <sup>d</sup>   | ۳/۷۵ <sup>a</sup>  | ۱/۵۱۶ <sup>a</sup>  |
| ۵                | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۶۰ | ۴/۸۹ <sup>c</sup>  | ۵/۲۰ <sup>a</sup>  | ۰/۷۹۷ <sup>gh</sup> |
| ۶                | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۷۵ | ۵/۰۵ <sup>c</sup>  | ۶/۵۷ <sup>a</sup>  | ۰/۷۲۶ <sup>h</sup>  |
| ۷                | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۴۵ | ۶/۵۸ <sup>b</sup>  | ۲/۰۵ <sup>b</sup>  | ۰/۹۱۷ <sup>ef</sup> |
| ۸                | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۶۰ | ۷/۷۷ <sup>a</sup>  | ۵/۷۰ <sup>a</sup>  | ۰/۸۴۳ <sup>fg</sup> |
| ۹                | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۷۵ | ۸/۰۳ <sup>a</sup>  | ۳/۳۱ <sup>a</sup>  | ۰/۷۵۱ <sup>h</sup>  |
| LSD <sup>b</sup> |     |     |      |                    |                    |                     |
|                  |     |     |      | ۱/۱۲               | ۴/۴۶               | ۰/۱۳۲               |

<sup>a</sup> اعداد میانگین دو تکرار می‌باشد. <sup>b</sup> مقایسه میانگین در هر ستون در سطح ۰/۰۱. میانگین‌ها در هر ستون که دارای حروف مشابه هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

صورت استفاده از صمغ دانه ریحان می‌توان امولسیونی با اندازه ذرات کوچکتر تولید نمود. نمونه ۲ بیشتر از دیگر نمونه‌ها به سمت راست متمایل بود، یعنی اندازه ذرات در این امولسیون نسبت به سایر نمونه‌ها بزرگتر است. دامنه توزیع اندازه ذرات در این تحقیق ۲ تا ۸/۰۳ میکرومتر بود (۶).

شکل ۳ توزیع اندازه ذرات سس مایونز را در غلظت ۰/۶ درصد صمغ دانه ریحان، گزانتان و مخلوط صمغ دانه ریحان - گزانتان نشان می‌دهد. با توجه به شکل می‌توان دریافت که هر سه نمونه توزیع اندازه ذره مونومodal داشتند، اگرچه نمونه شماره ۵ نسبت به سایر نمونه‌ها تمایل بیشتری به سمت چپ داشت، بدین معنی که در



شکل ۳- توزیع اندازه ذرات نمونه‌های مایونز کم‌چرب در غلظت ۰/۶٪ صمغ مورد استفاده (◇، نمونه شماره ۲؛ △، نمونه شماره ۵؛ □، نمونه شماره ۷)

کمترین پایداری مربوط به مایونز دارای ۰/۴۵ درصد مخلوط صمغها (۵۰ درصد صمغ دانه ریحان و ۵۰ درصد صمغ گزانتان) بود. افزایش غلظت صمغ دانه ریحان در نمونه‌های ۴ و ۵ معنی‌دار نبود ( $p>0.05$ ). نورجیاتی و همکاران (۲۰۰۸) پایداری مایونزهای مدل تهیه شده با هیدروکلئیدهای گزانتان، گوار، لوبیای افاقی، صمغ عربی و کربوکسی‌متیل سلولز را اندازه‌گیری کردند. نتایج نشان داد که همه امولسیونها به جز امولسیون تهیه شده با کربوکسی‌متیل سلولز، دو فاز شدند. پایداری امولسیون حاوی صمغ عربی از همه کمتر بود که به ساختار ضعیف امولسیون و ویسکوزیته پایین آن نسبت داده شد. نیک‌نیا و همکاران (۲۰۰۹) پایداری مایونز پر چرب تولید شده با صمغ های دانه ریحان، گوار و مرو را اندازه‌گیری کردند. نتایج نشان داد که بیشترین پایداری مربوط به صمغ گوار بود و تقریباً همه نمونه‌ها از پایداری بالایی برخوردار بودند.

Raymundo و همکارانش (۲۰۰۲) اندازه قطرات روغن را در ۱۰ نمونه مایونز تجاری بررسی کردند و میانگین آنها را ۵/۵ میکرومتر گزارش کردند. همچنین نیک‌نیا و همکاران (۲۰۰۹) توزیع اندازه ذرات سس مایونز پرچرب را بسیار پایین و در دامنه ۱/۳۱۵-۳/۴۶۵ میکرومتر گزارش کردند

### پایداری فیزیکی

جدول ۶ مقادیر پایداری فیزیکی سس مایونز کم‌چرب را به‌عنوان تابعی از نوع و غلظت جایگزین چربی نشان می‌دهد. در بین نمونه‌ها، فرمول‌های ۱، ۲، ۳، ۸ و ۹ کاملاً پایدار بودند و هیچ‌گونه پدیده دوفاز شدن در آنها مشاهده نشد. پایداری بیشتر گزانتان احتمالاً به دلیل ویسکوزیته بیشتر این صمغ نسبت به صمغ دانه ریحان می‌باشد. در بین سایر نمونه‌های دوفاز شده یعنی فرمول‌های ۴، ۵، ۶ و ۷ بیشترین پایداری مربوط به مایونز حاوی ۰/۷۵ درصد صمغ دانه ریحان و

جدول ۶- مقدار پایداری تیمارهای مایونز کم‌چرب<sup>a</sup>

| تیمار                 | XG  | RSG | C (%) | پایداری (درصد)      | نمونه‌های دو فاز شده | نمونه‌های سه فاز شده |
|-----------------------|-----|-----|-------|---------------------|----------------------|----------------------|
| ۱                     | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۴۵  | —                   | —                    | —                    |
| ۲                     | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۶   | —                   | —                    | —                    |
| ۳                     | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۷۵  | —                   | —                    | —                    |
| ۴                     | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۴۵  | ۶۵/۴۳ <sup>bd</sup> | —                    | —                    |
| ۵                     | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۶   | ۶۷/۰۷ <sup>b</sup>  | —                    | —                    |
| ۶                     | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۷۵  | ۸۳/۴۲ <sup>a</sup>  | ۴۷/۹۵                | —                    |
| ۷                     | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۴۵  | ۵۷/۰۵ <sup>d</sup>  | —                    | —                    |
| ۸                     | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۶   | —                   | —                    | —                    |
| ۹                     | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۷۵  | —                   | —                    | —                    |
| LSD <sup>b</sup> ۹/۹۴ |     |     |       |                     |                      |                      |

<sup>a</sup> اعداد میانگین دو تکرار می‌باشد. <sup>b</sup> مقایسه میانگین در هر ستون در سطح ۰/۰۱. میانگین‌ها در هر ستون که دارای حروف مشابه هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

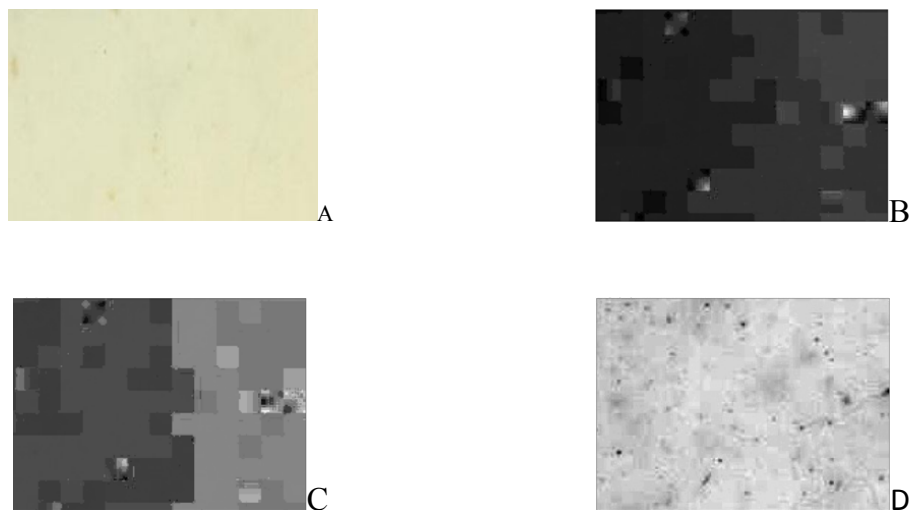
کاهش یافت. بالاترین مقدار  $b^*$  مربوط به مایونز تهیه شده با ۰/۴۵ درصد صمغ گزانتان و کمترین مقدار مربوط به نمونه تهیه شده با ۰/۷۵ درصد صمغ دانه ریحان می‌باشد، در نتیجه بهترین رنگ از لحاظ زردی محصول در نمونه شماره ۶ مشاهده شده است. در این تحقیق با افزایش غلظت صمغ گزانتان در سه نمونه ۱، ۲ و ۳، مقدار  $L^*$  کاهش یافت، یعنی از روشنایی محصول کاسته شد، این در حالی است که در نمونه‌های حاوی مخلوط صمغ دانه ریحان-گزانتان، با افزایش غلظت صمغ‌ها، مقدار  $L^*$  افزایش یافت. در نمونه‌های حاوی صمغ دانه ریحان روند خاصی مشخص نشد. بیشترین مقدار  $L^*$  مربوط به مایونز تهیه شده با ۰/۴۵ درصد صمغ گزانتان و کمترین مربوط به مایونز تهیه شده با ۰/۴۵ درصد صمغ

### ویژگی‌های رنگ

در شکل ۴ نمونه‌ای از مراحل پردازش تصویر تبدیل عکس‌ها از فرمت RGB به فرمت  $L^*a^*b^*$  نشان داده شده است. فضای رنگ  $L^*a^*b^*$  از سه مولفه  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  تشکیل شده است. مولفه  $L^*$  معادل روشنایی تصویر است که بین صفر (معادل مشکی) و صد (معادل انعکاس کامل نور سفید) متغیر است. مقادیر مولفه  $a^*$  نامحدود است و مقادیر مثبت معادل رنگ قرمز و مقادیر منفی معادل رنگ سبز است. مقادیر  $b^*$  نیز نامحدود است و مقادیر مثبت معادل رنگ زرد و مقادیر منفی معادل رنگ آبی می‌باشد (Papadakis و Yam، ۲۰۰۴). همانطور که نتایج ارائه شده در جدول ۷ نشان می‌دهد با افزایش غلظت صمغ در نمونه‌ها میزان پارامتر  $b^*$ ، یعنی زردی محصول

a\* مربوط به مایونز تهیه شده با ۰/۷۵ درصد صمغ دانه ریحان و کمترین مقدار آن مربوط به نمونه تهیه شده با ۰/۷۵ درصد صمغ گزانتان می باشد.

دانه ریحان بود. مقدار a\* در تمام نمونه‌ها منفی می‌باشد و مقدار منفی بیانگر رنگ سبز است. با افزایش غلظت صمغ در نمونه‌های حاوی گزانتان این مقدار کاهش یافت، یعنی از میزان رنگ سبز کاسته شد، ولی در سایر نمونه‌ها روند خاصی مشاهده نشد. بیشترین مقدار



شکل ۴- نمونه تصویر تبدیل شده: (A) نمونه عکس بریده شده، (B) مولفه a\* تصویر، (C) مولفه b\* ، (D) مولفه L\* تصویر.

افزودن دو نوع صمغ کتیرای ایرانی بیان کردند مایونز همراه با کتیرای اصفهان در تمام غلظت‌ها دارای رنگ روشن‌تری نسبت به مایونز همراه با صمغ کتیرای اسفراین بوده و این تاثیر در غلظت ۰/۳ درصد صمغ بیشتر است.

دهقان و همکاران (۱۳۸۸) با افزودن نشاسته های گندم و ذرت به سس سفید تغییرات مقادیر L\*، a\* و b\* را اندازه گرفتند و گزارش کردند که با افزودن این هیدروکلوئیدها میزان L\* و a\* بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد. طویه عالم زاده و همکاران (۱۳۸۸) با

جدول ۷- پارامترهای رنگی L\*، a\* و b\* نمونه‌های مایونز کم چرب<sup>a</sup>

| تیما             | XG  | RSG | C (%) | L*    | a*    | b*    |
|------------------|-----|-----|-------|-------|-------|-------|
| ۱                | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۴۵  | ۸۸/۰۹ | ۴/۷۳  | ۱۷/۲۸ |
| ۲                | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۶۰  | ۸۲/۶۴ | ۵/۲۵  | ۱۷/۰۵ |
| ۳                | ۱۰۰ | ۰   | ۰/۷۵  | ۸۲/۳۱ | ۵/۴۱  | ۱۶/۰۴ |
| ۴                | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۴۵  | ۶۹/۳۶ | ۴/۰۶  | ۱۵/۸۰ |
| ۵                | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۶۰  | ۸۰/۴۲ | ۵/۳۶  | ۱۵/۳۵ |
| ۶                | ۰   | ۱۰۰ | ۰/۷۵  | ۷۷/۳۳ | ۲/۸۹  | ۱۷/۳۸ |
| ۷                | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۴۵  | ۷۶/۱۸ | ۳/۲۹  | ۱۰/۰۰ |
| ۸                | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۶۰  | ۸۴/۹۰ | ۴/۰۶  | ۹/۸۷  |
| ۹                | ۵۰  | ۵۰  | ۰/۷۵  | ۸۴/۵۷ | ۳/۲۲  | ۹/۲۰  |
| LSD <sup>b</sup> |     |     |       |       |       |       |
|                  |     |     |       | ۱/۰۸۳ | ۰/۴۹۴ | ۱/۱۰۷ |

<sup>a</sup> اعداد میانگین دو تکرار می‌باشد<sup>b</sup> مقایسه میانگین در هر ستون در سطح ۰/۰۱. میانگین‌ها در هر ستون که دارای حروف مشابه هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD می‌باشند. صمغ ریحان (RSG)، صمغ گزانتان (XG) و غلظت صمغ (C)

## نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش نمونه‌های مایونز کم چرب جزء سیالات غیرنیوتنی شل‌شونده با برش طبقه‌بندی می‌شوند. با افزایش غلظت جایگزین‌های چربی (صمغ دانه ریحان و گزانتان) ویسکوزیته نمونه‌ها افزایش یافت. کمترین ویسکوزیته و قطر متوسط ذرات به مایونز حاوی ۰/۴۵ درصد ریحان تعلق گرفت. بر این اساس در صورت استفاده از صمغ دانه ریحان می‌توان امولسیون با اندازه ذرات کوچکتر تولید نمود. با افزایش غلظت صمغ در نمونه‌های حاوی صمغ دانه ریحان با وجود افزایش پایداری، دو فاز شدن مشاهده شد. با افزایش غلظت صمغ گزانتان مقدار  $L^*$  (روشنایی) کاهش یافت، در

حالی که در نمونه‌های حاوی مخلوط صمغ دانه ریحان- صمغ گزانتان، با افزایش غلظت صمغ‌ها مقدار  $L^*$  افزایش یافت. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق می‌توان گفت که استفاده از صمغ دانه ریحان به تنهایی در غلظت‌های پایین در سس مایونز کم چرب مطلوب نبوده و در صورت استفاده در غلظت‌های بالاتر لازم به بررسی بیشتر از نظر رنگ و پایداری می‌باشد ولی در صورت ترکیب با صمغ گزانتان (۰/۷۵٪ صمغ دانه ریحان- ۰/۷۵٪ صمغ گزانتان) نتایج مطلوب‌تری بدست آمده که می‌توان سس کم‌چرب با ویژگی‌های مناسب جهت مصرف تولید نمود.

## منابع

- Alemzadeh, T., Mohammadifar, M. A., Azizi, M. H., Ghanati, K. (1388) Effect of two different species of Iranian gum tragacanth on the rheological properties of mayonnaise sauce
- Azoma, J. & Sakamoto, M. (2003). , Cellulosic hydrocolloid system present in seed of plants Trends in Glycoscience and Glycotechnology, 15(81), 1-14.
- Barbosa-Canovas, G.V. & Ma, L. (1995). , Rheological Characterization of mayonnaise. Part 2: flow and viscoelastic properties of different oil and xanthan gum concentration. Journal of Food Engineering, 25, 409-425.
- Birch, G.C. and M.G. Lindley, (1987). , Low Calorie Products. Elsevier Applied Science, New York, USA, 681P.
- Bruhn, C.M., A. Cotter, and M. Yaffee, (1992). , Consumer attitudes and market potential for food using fat substitutes, Food Technology, 46(4), 81-84.
- David J. M. (1999). , Food Emulsions Chapman and Hall, New York.
- Dominic V. S., (1989). , Mechanism and theory in Food Chemistry, 2nd Van Nostrand, Reinhold, London.
- Friberg, S.E., Laesson, K., & Sjoblom, J. (2004). , Food Emulsions. Fourth Edition, Chapter 13 Glicksman, M. (1969), Gum technology in the food industry.
- Hunterlab, the color Management Company. Hunter L, a, b versus CIE, (1976). ,  $L^*a^*b^*$ . Application Note, 2001, 13(2):1-6.
- Ibanoglu, E. (2002). , Rheological behavior of whey protein stabilized emulsions in the presence of gum Arabic. Journal OF Food Engineering, 52, 273-277.
- Koocheki, A., Kadkhodae, R., Mortazavi, S.A., Shahidi, F., Taherian, A.R. (2009). , Influence of alyssum homolocarpum seed gum on the stability and flow properties of o/w emulsion prepared by high intensity ultrasound. Food Hydrocolloids, 23 (8), 2416-2424.
- Liu, H. X., M. Xu, Sh., Guo, D. (2007). , Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics, LWT, 40, 946-95.
- Ma, L., and Barbosa-Ca'novas G.V. (1995). , Rheological characterization of mayonnaise. Part I: Slippage at different oil and xanthan gum concentrations. Journal of Food Engineering. 25, pages 397-408.
- Ma, L and Barbosa-Ca'novas G.V. (1995). , Rheological characterization of mayonnaise. Part II: Flow and viscoelastic properties at different oil and xanthan gum concentrations. Journal of Food Engineering, Volume 25, Issue 3, pages, 409-425.
- Mancini, F., Montanari, L., Perssini, D., & Fantozzi, P. (2002). , Influence of alginate concentration and molecular weight on functional properties of mayonnaise. LWT, 35, 517-525.
- Mandala, I.G, Savvas, T.P., Kostaropoulos.A.E. (2004). , Xanthan and locust bean gum influence on the rheology and structure of a white model-sauce. Journal of Food Engineering, 64, 335-342
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed, S.M., & Ghorbani, A. (2005). , Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2, 63-79.
- NikNia, S, Razavi, S. M. A., Koocheki, A. 2009. Effect of selected stabilizers (basil seed gum, sage seed gum and guar gum) on the physical, sensory and rheological properties of mayonnaise. MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
- Razavi, S.M.A, Akbari, R. 1388, Biophysical properties of agricultural & food materials Ferdowsi university of Mashhad publication.
- Nor Hayati, I. , Yaakob, B.C.M. , Chin, P.T. , Nor Aini, I. (2009). , Droplet characterization and stability of soybean oil/palm kernel olein o/w emulsions with the presence of selected polysaccharides. Food Hydrocolloids, 23, 233-243.

- Paraskevopoulou, A., D., Boskou and V, Kiosseoglou, (2005). , Stabilization of olive oil – lemon juice emulsion with polysaccharides. *Food Chem*, 90(4), 627-634.
- Raghubeer, E.V., J.S. Ke, M.L. Campbell and R.S, Meyer, (1995). , Fate of Escherichia coli 0157:H7 and other coli forms in commercial mayonnaise and refrigerated salad dressing. *J. Food Prot*, 58: 13-18.
- Raymundo, A., Franco, J.M, Empis. , J and Sousa, I, (2002). , Optimization of the Composition of Low-Fat Oil-in-water Emulsions Stabilized by White Lupin Protein. *JAOCs*, Vol, 79, no.8.
- Razavi, S.M.A., Bostan, A., Rezaie, M, (2010). , Image processing and physicochemical properties of basil seed (*Ocimum basilicum* L.) *Journal of Food process Engineering*, 33 (1), 51-64.
- Razavi, S.M.A., Mortazavi, S. A., Matia-Merino, L., Hosseini-Parvar, S. H., and Khanipour, E, (2009). , Optimization study of gum extraction from Basil seeds (*Ocimum basilicum* L.) using Response Surface Methodology, *International Journal of Food Science and Technology*, 44 (9), 1755-1762.
- Razmkhah, S, Razavi, S.M.A, Mazaheri Tehrani, M.M. 2009. The effect of some local hydrocolloids on rheological and sensory characteristics of non-fat concentrated yoghurt. MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
- S.H. Hosseini-Parvar<sup>1</sup>, S.A. Mortazavi, S.M.A. Razavi, L. Matia-Merino and A. Motamedzadegan(1388) Flow behavior of gum solutions extracted from *Ocimum basilicum* seeds mixed with Locust bean gum and Guar gum. *EJFPP*, Vol. 1 (2): 69-84
- Standard mayonnaise Iran, No 2464
- Stern Peter, Valentova Helena, Pokorny Jan, (2001). Rheological properties and sensory texture of mayonnaise. *Eur.j.lipid sci.Technol*, 103, 23-28.
- Sun, C, & Gunasekaran, S, (2007a). , Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocolloids* accepted 13 December.
- Sun, C, Gunasekaran, S., & Richards, M. P, (2007b). , Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 21, 555-564.
- Torabizade, H, 1381. *Food emulsions and emulsifiers*. Aeezh publication.
- Voisery, P.W., and W, Foster, (1967). , An apparatus for measuring the mechanical properties of foods. *J. Food Technol*, 21(4), 43-47.
- Yam, K. A., S., E, Papadakis, (2004). , A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61, 137–142.



## The effect of basil seed gum and xanthan on the physical and rheological characteristics of low fat mayonnaise

S. Shamsae<sup>1</sup>, S. M. A. Razavi<sup>2\*</sup>, B. Emadzadeh<sup>3</sup>, E. Ataei Salehi<sup>4</sup>

Received: 2014.07.16

Accepted: 2015.01.04

**Introduction:** An emulsion is made of dispersed particles through the continuous phase, while not dissolving happens between two phases. Mayonnaise is oil-in- water emulsion (James and Dakin, 1962), as one of the most sauces used in the world. It has a mild odor and taste, creamy to pale yellow color and a pH in the range of 3.6- 4.0, which does not exceed 4.1 (Iranian National Standard, No 2454). Emulsion products are naturally instable. Different factors such as temperature, particles size, stirring, mechanical movements, constituents' concentration, presence or absence of stabilizers and thickeners may affect the emulsion stability (David, 1999). *Ocimum basilicum* L., known as basil (or “Reyhan” in Iran), is a common herb plant grown in Iran. Soaking in water, basil seeds become gelatinous. The high mucilage content of basil seeds can make it a novel source of edible gum (Razavi *et al.*, 2008). The objective of this paper was to investigate the effect of basil seed gum as well as xanthan as fat replacers on some physical and rheological properties of low fat mayonnaise.

### Materials and methods:

#### Emulsion stability determination:

Mayonnaise samples were centrifuged at 5000 rpm for 30 minutes. Emulsion stability (ES) was then determined using the following relation (Worrasinchai S *et al.*, 2006):

$$\text{Stability index} = (\text{Total volume} / \text{Volume of emulsion remaining}) \times 100.$$

#### Particle size measurement:

Particle size distribution of low-fat mayonnaise samples was determined using laser light diffraction technique (Fritsch Analysette 22, Germany).

#### Rheological measurements:

A rotational viscometer (Visco 88, Malvern, UK) equipped with a thermal circulator was used to measure the steady shear rheological properties of samples at the shear range of 14-300 s<sup>-1</sup> and constant temperature of 25 °C. Power law, Bingham, Casson, and Herschel-Bulkley models were fitted on the experimental data and the rheological parameters of these models were determined using Slidewrite plus-bar Graph software (1983, Advanced Graphics Software, Inc, USA).

#### Image processing:

A scanner was used to capture the samples' image and the scanner resolution was set to 300 dpi. 7g sample was placed onto a plate and then 152×210 Pixel parts was cut from the obtained image. All images were stored in JPEG format for further analysis. The Clemex image processing software (Clemex Vision Professional, PE4, Canada) was used to determine the color parameters (L\*, a\* and b\*).

### Results and Discussion:

#### Steady shear flow behavior:

The results showed that all samples are classified rheologically as non-Newtonian shear thinning fluids. According to R<sup>2</sup> values, Power law was considered as the best rheological model to describe the flow behavior of samples. The maximum and the minimum consistency coefficients of Power law model were observed for the

1 And 4. Former MSc student Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran, Respectively.

2. Professor, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.

3. Assistant professor, Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran.

(\*Corresponding Author Email: s.razavi@um.ac.ir)

formulation containing 0.75% xanthan gum and 0.45% basil seed gum, respectively. In this study, the apparent viscosity of mayonnaise (in shear rate 42 s<sup>-1</sup>) raised with increasing gum concentration that this increase in samples 4 and 5 were not significant ( $P>0.01$ ). The highest apparent viscosity was observed in sample 3 that was prepared with a concentration 0.75% of xanthan gum, while the lowest viscosity was related to sample 4 that was contained of 0.45% basil seed gum. With increasing gum concentration, Bingham viscosity of the samples increased, but this increase in the samples (1, 7, 8) and (2, 6, 9) was not significant ( $P>0.01$ ). Yield stress values of Herschel-Bulkley ( $\tau_H$ ), Bingham ( $\tau_B$ ) and Casson ( $\tau_C$ ) models raised with the increasing of gum concentration. Highest yield stress value was related to mayonnaise containing 0.45% xanthan gum and the lowest yield stress value related to mayonnaise prepared with 0.45% basil seed gum.

**Particle size distribution:**

Particle size distribution of mayonnaise at concentration of 0.6 % xanthan gum, basil seed gum and mixture of xanthan- basil seed gum had mono-modal particle size distribution.

**Emulsion stability:**

Among samples, formulations of 1, 2, 3, 8, and 9 were quite stable and there was no instability (two-phase state). Higher stability in emulsions containing xanthan gum was probably due to higher viscosity of this gum compared to basil seed gum .

**Color:**

The best color was observed in sample 6. In this study, with increasing concentration of gum in three samples (1, 2, 3), the amount of L\* decreased, it means that the brightness of the product was reduced while in samples containing a mixture of gums (xanthan- basil seed gum), increasing the gum concentration resulted in an increase in L\* parameter.

**Key words:** Emulsion; Fat substitute; Hydrocolloids; Image processing; Rheology

## ارزیابی ویژگی‌های ساختاری و عملکردی پروتئین سه ژنوتیپ مختلف لوبیا (*Phaseolus vulgaris*)

نازنین فاطمه رحمتی<sup>۱</sup>، آرش کوچکی<sup>۲\*</sup>، مهدی وریدی<sup>۳</sup>، رسول کدخدایی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۸

### چکیده

امروزه تقاضا برای استفاده از پروتئین‌های گیاهی در حال افزایش است زیرا این پروتئین‌ها منابعی قابل دسترس و ارزان هستند. لذا در این تحقیق پروتئین سه ژنوتیپ مختلف لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) شامل پاج باقلا (Speckled Sugar)، قرمز (Red Mexican) و سفید (Great Northern) با استفاده از روش کلیایی-اسیدی استخراج و ویژگی‌های ساختاری (الکتروفورز، حلالیت، آب‌گریزی) و عملکردی آنها در سیستم‌های مختلف غذایی (امولسیون، ژل و کف) در دامنه پی‌اچ ۳ تا ۷ مورد بررسی قرار گرفت. الکتروفورز پروتئین‌ها نشان داد که فازتولین بخش عمده تشکیل‌دهنده هر سه نوع پروتئین مورد بررسی است. ارزیابی حلالیت پروتئین‌ها نیز مشخص نمود که هر سه پروتئین دارای حلالیت بسیار مناسب هستند بطوری که حلالیت پروتئین لوبیا پاج باقلا در پی‌اچ ۷، ۸۳ درصد بود. همچنین بررسی آب‌گریزی سطحی نشان داد که پروتئین لوبیای پاج باقلا کمترین و پروتئین لوبیا سفید بیشترین آب‌گریزی را دارا بودند ( $P < 0.05$ ). به علاوه هر سه پروتئین کمترین آب‌گریزی سطحی را در پی‌اچ ۷ نشان دادند. ارزیابی ویژگی‌های عملکردی پروتئین‌ها نیز بیان‌کننده این مطلب بود که توانایی امولسیون‌کنندگی بیشتر تحت تاثیر حلالیت پروتئین و در مقابل توانایی تشکیل ژل و کف‌کنندگی تحت تاثیر آب‌گریزی پروتئین‌ها بوده است بطوری که بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی برای هر سه پروتئین در پی‌اچ ۷ (۷۰-۷۷ درصد) اما بیشترین توانایی تشکیل ژل (۶ درصد پروتئین) و کف (۱۳۰-۱۵۰ درصد) در پی‌اچ ۳ مشاهده گردید. نتایج این پژوهش نشان داد با توجه به تاثیر مستقیم ویژگی‌های ساختاری پروتئین بر عملکرد آن، این ویژگی‌ها باید قبل از انتخاب پروتئین برای استفاده در سیستم‌های مختلف غذایی مورد توجه قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: پروتئین لوبیا، ساختار، عملکرد، امولسیون، ژل، کف

### مقدمه

امکان استفاده از ایزوله پروتئین خالص برای تولید و پایداری سازی امولسیون روغن در آب و چگونگی عملکرد پروتئین‌های سویا و گلوتم گندم برای پایداری سازی امولسیون‌های با روغن بالا (۷۵ درصد روغن) به ترتیب توسط قربانیان (۱۳۹۲) و Bengoechea و همکاران (۲۰۱۰) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج هر دو تحقیق نشان‌دهنده افزایش ناپایداری امولسیون در پی‌اچ ایزوالکتریک به دلیل خنثی بودن بار الکتریکی در این نقطه و بهم پیوستگی و در نتیجه بزرگتر شدن ذرات و افزایش ناپایداری امولسیون بود. Jarpa-Parraa و همکاران (۲۰۱۵) نیز با بررسی برخی ویژگی‌های ساختاری پروتئین عدس، کمترین میزان حلالیت پروتئین عدس را در محدوده پی‌اچ ۴ تا ۵ مشاهده کردند. آنها همچنین کمترین میزان آب‌گریزی این پروتئین را در پی‌اچ ۵ و بیشترین میزان این کمیت را در پی‌اچ ۳ گزارش کردند. ویژگی‌های عملکردی آرد برخی حبوبات شامل آرد نخود، عدس، لوبیا قرمز و لوبیا چیتی نیز توسط اسدپور و همکاران (۱۳۹۰) مورد بررسی

پروتئین‌ها مولکول‌هایی با ویژگی‌های عملکردی منحصر به فرد هستند که در سیستم‌های مختلف غذایی (امولسیون، ژل، کف و...) مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه تقاضا برای استفاده از پروتئین‌های گیاهی در حال افزایش است زیرا این پروتئین‌ها منابعی قابل دسترس و ارزان هستند (Karaca et al., 2011; Aluko et al., 2009). پیش از این ویژگی‌های ساختاری و عملکردی برخی از پروتئین‌های گیاهی مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال

۱، ۲ - دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۴ - دانشیار گروه نانو فناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی مشهد.

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

### استخراج پروتئین

برای استخراج پروتئین از روش قلیایی - اسیدی استفاده شد (Rahmati et al., 2016). استخراج قلیایی با نسبت ۱:۱۰ آرد (لویا) پاچ باقلا ۲۳/۳۴ درصد پروتئین، ۳/۲ درصد چربی، ۴/۴ درصد خاکستر، ۶۹/۲۸ درصد کربوهیدرات، لویا قرمز ۲۴/۱۷ درصد پروتئین، ۳/۰۱ درصد چربی، ۳/۶۹ درصد خاکستر، ۶۷/۹۵ درصد کربوهیدرات، لویا سفید ۲۳/۵۹ درصد پروتئین، ۲/۴۹ درصد چربی، ۴/۱۴ درصد خاکستر، ۶۹/۷۸ درصد کربوهیدرات) به آب به مدت ۴۵ دقیقه در پی‌اچ ۹ انجام و سپس برای جداسازی باقی‌مانده آرد از سانتریفوژ (Sigma 3-30 KHS, Sigma Co., Germany) (۱۵، ۱۵۰۰g) دقیقه استفاده گردید. رسوبدهی پروتئین در پی‌اچ ۴/۵ صورت گرفت و بعد از آن این رسوب توسط سانتریفوژ (۱۵، ۷۰۰۰g) دقیقه جدا شد. در گام بعد، رسوب پروتئین با آب در طی دو مرحله شست‌وشو و سپس خنثی‌سازی با استفاده از سود یک نرمال در پی‌اچ ۷ صورت گرفت. پروتئین بدست آمده با استفاده از خشک‌کن انجمادی خشک، سپس تحت خلا بسته‌بندی و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

### الکتروفورز

برای انجام بعد اول الکتروفورز از نوار پی‌اچ در محدوده ۳ تا ۱۰ استفاده گردید. در بعد دوم ابتدا متعادل‌سازی نوارهای ژل انجام و سپس از ژل متراکم‌کننده ۵ و از ژل جدا کننده ۱۱/۵ درصد برای جداسازی اجزای پروتئین استفاده شد. کوماسی برلیانت بلو نیز برای رنگ‌آمیزی ژل‌ها استفاده گردید.

### حلالیت پروتئین

حلالیت پروتئین سه تیپ مختلف لویا در پی‌اچ‌های مختلف (۹-۳) با استفاده از روش بیورت اندازه‌گیری شد (Owusu-Apenten, 2002). برای تنظیم پی‌اچ از سود سوزآور و اسید هیدروکلریدریک (یک و یک‌دهم نرمال) و برای جداسازی پروتئین غیرمحلول از سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه استفاده گردید. جذب نمونه‌ها نیز در طول موج ۵۴۰ نانومتر (WPA Lightwave s2000, UV/Vis, Scintec Co., UK) خوانده شد. پروتئین سرم آلبومین گاو به‌عنوان پروتئین استاندارد در نظر گرفته شد.

### آب‌گریزی سطحی

آب‌گریزی سطحی پروتئین با استفاده از پروپ ۸- آنیلینو-۱- نفتالن سولفونیک اسید مورد ارزیابی قرار گرفت (ANS). به این منظور، ۴ میلی‌لیتر از محلول پروتئین تهیه شده با بافر فسفات سدیم ۰/۰۱ مولار در پی‌اچ‌های مختلف (۳-۷) با ۲۰ مایکرولیتر از محلول

قرار گرفت. نتایج نشان داد که آرد لویا چیتی و قرمز از فعالیت امولسیون‌کنندگی بیشتری برخوردار بوده و آرد نخود و عدس از لحاظ این ویژگی بعد از این دو آرد قرار داشتند. بیشترین میزان کف‌کنندگی نیز برای آرد لویا قرمز و چیتی (۶۸ و ۶۴ درصد) و کمترین میزان کف‌کنندگی (۳۴ درصد) نیز برای آرد نخود مشاهده گردید. خصوصیات عملکردی آرد و ایزوله پروتئین گونه‌ای از بادام‌زمینی و کانولانیز توسط Eltayeb و همکاران (۲۰۱۱) و Chang و همکاران (۲۰۱۵) مورد بررسی قرار گرفت.

پروتئین حبوبات گروه مهمی از پروتئین‌های گیاهی هستند. گرچه به دلیل عدم وجود اطلاعات کافی در مورد ویژگی‌های عملکردی‌شان (بجز پروتئین سویا) تاکنون کاربرد محدودی در صنعت و تولید محصولات غذایی داشته‌اند (Papalamprou et al., 2010; Karaca et al., 2011).

لویا (*Phaseolus vulgaris*) در بین حبوبات در جهان دارای بیشترین سطح زیر کشت است و در کشورهای مختلف دنیا حداقل کشت یکی از انواع لویا رایج است (همتی، ۱۳۹۱؛ باقری و همکاران، ۱۳۸۰). لویا علاوه بر داشتن ۱۵ تا ۲۵ درصد پروتئین، منبع مهمی از فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی نیز می‌باشد (Sathe, 2002).

به دلیل وجود منابع تجاری محدود از پروتئین حبوبات در صنایع غذایی و با توجه به تولید قابل توجه لویا در کشور (بیش از ۲۲۶ هزار تن در سال زراعی ۹۲-۹۳) و جهان هدف از انجام این تحقیق معرفی و ارائه منبع جدیدی از پروتئین حبوبات خواهد بود. به دلیل اینکه توصیف عملکرد پروتئین در سیستم‌های مختلف غذایی، به داشتن درک مناسبی از ویژگی‌های ساختاری پروتئین بستگی دارد، در این تحقیق تلاش بر آن خواهد بود که با بررسی برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی (الکتروفورز، حلالیت و آب‌گریزی) پروتئین تیپ‌های مختلف لویا، قابلیت کاربرد این پروتئین‌ها در تشکیل و تولید سیستم‌های مختلف غذایی (امولسیون، ژل و کف) مورد ارزیابی قرار گیرد.

### مواد و روش‌ها

#### مواد

سه تیپ مختلف لویا (*Phaseolus vulgaris*) شامل لویا پاچ باقلا با نام تجاری Speckled Sugar، لویا قرمز با نام تجاری Red Mexican و لویا سفید با نام تجاری Great Northern از مرکز تحقیقات کشاورزی اراک خریداری گردید. مواد شیمیایی مختلف با درجه آزمایشگاهی (سیگما، بیوراد، مرک و مجلی) تهیه و از روغن مایع آفتابگردان برای تهیه امولسیون استفاده گردید.

دقیقه هموژنایزر توراکس به مدت دو دقیقه برای تولید کف استفاده گردید. توانایی تولید کف پروتئین به‌عنوان تفاوت حجم قبل و بعد از تولید کف محاسبه گردید. پایداری کف نیز در طی ۹۰ دقیقه بعد از تولید کف ارزیابی شد.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طرح آزمایشی فاکتوریل با پایه کاملاً تصادفی برای انجام آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفت. برای حلالیت از ۱ درصد پروتئین در پنج سطح پی‌اچ (۳، ۴/۵، ۵، ۷ و ۹)، برای آب‌گریزی از شیب خط نمودار در سه سطح پی‌اچ (۳، ۵ و ۷)، برای توانایی امولسیون‌کنندگی و پایداری حرارتی امولسیون از ۱ درصد پروتئین در سه سطح پی‌اچ (۳، ۵، ۷) و برای کف‌کنندگی از ۱/۲ درصد پروتئین در سه سطح پی‌اچ (۳، ۵ و ۷) استفاده گردید. تمامی آزمون‌ها با ۲ تا ۴ تکرار انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ صورت پذیرفت.

### نتایج و بحث

#### الکتروفورز

شکل ۱ نشان‌دهنده نقشه پروتئوم پروتئین‌ها در دو بعد (پی‌اچ ایزوالکتریک و وزن مولکولی) است. با توجه به شکل پی‌اچ ایزوالکتریک اغلب اجزای تشکیل‌دهنده هر سه پروتئین در محدوده اسیدی (کمتر از ۷) قرار داشت. پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین لوبیا نیز مانند پروتئین دیگر حبوبات به دلیل داشتن مقدار زیادی اسیدهای آمینه اسیدی در محدوده پی‌اچ اسیدی قرار دارد (Sathe, 2002).

نقشه پروتئوم بیان‌کننده این مطلب است که بیشترین تجمع اسپات‌ها در محدوده پی‌اچ بین ۴/۵ تا ۶/۵ است. Fuente و همکاران (۲۰۱۲) و Natarajan و همکاران (۲۰۱۳) نیز بعد از انجام الکتروفورز پروتئین لوبیا در دو بعد دریافتند که بیشترین اسپات‌های پروتئینی در محدوده پی‌اچ بین ۴/۵ تا ۷ قابل مشاهده اند. Dziuba و همکاران (۲۰۰۹) و Scippa و همکاران (۲۰۱۰) نیز نتیجه مشابهی را برای پروتئین‌های نخود و عدس گزارش کردند (Dziuba et al., 2014; Scippa et al., 2010).

پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین تحت تاثیر ساختار سه‌بعدی آن قرار دارد و در شرایطی که ساختار سه‌بعدی پروتئین از بین برود و پروتئین دناتوره گردد پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین تغییر خواهد کرد. در پروتئین با ساختار طبیعی برخی از گروه‌های آمین و کربوکسیل زنجیره جانبی اسیدهای آمینه توسط پیوندهای هیدروژنی به یکدیگر اتصال یافته‌اند. این پیوندهای هیدروژنی در طی دناتوره شدن پروتئین باز شده و به این ترتیب پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین افزایش یافته و به عدد ۷ نزدیک می‌شود (Pauling, 2001). از آنجایی که الکتروفورز

پروب (۸ میلی‌مولار) مخلوط و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. بعد از آن، آب‌گریزی سطحی پروتئین‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپ فلوروسنس (Jasco FP-6500, Jasco analytical instruments, USA) تعیین گردید. برای برانگیختگی از طول موج ۳۹۰ نانومتر استفاده و نشر نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر بررسی شد. محلول پروب و محلول‌های پروتئین در پی‌اچ‌های مختلف (بدون پروب) به‌عنوان نمونه‌های شاهد مورد استفاده قرار گرفتند (Karaca, et al., 2011).

### ظرفیت امولسیون‌کنندگی - پایداری حرارتی امولسیون

ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری حرارتی امولسیون مشابه روش فیضی و همکاران (۱۳۹۲) ارزیابی شد. روغن آفتابگردان به آرامی به محلول پروتئین (۱ درصد پروتئین، پی‌اچ ۷-۳) اضافه و سپس نمونه‌های امولسیون (۲۵ درصد روغن) به مدت ۲/۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه (UltraTurrax, IKA Instruments, Germany) هموژن گردیدند. به‌منظور اندازه‌گیری ظرفیت امولسیون‌کنندگی، از سانتریفوژ به مدت ۲ دقیقه در ۱۰۰۰g استفاده شد. در نهایت ظرفیت امولسیون‌کنندگی با استفاده از فرمول زیر بدست آمد:

$$EC, EHS = (e_h / t_h) \times 100 \quad (1)$$

که در این معادله EC ظرفیت امولسیون‌کنندگی،  $e_h$  ارتفاع امولسیون و  $t_h$  ارتفاع کل نمونه منتقل شده به لوله است. برای محاسبه پایداری حرارتی (EHS)، نمونه‌های امولسیون قبل از سانتریفوژ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

### توانایی تشکیل ژل

نمونه‌های ژل پروتئینی با استفاده از روش بیان شده توسط Cheng و همکاران (۲۰۰۹) تهیه شد. به این منظور سوسپانسیون‌های پروتئینی (۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ درصد) در دامنه پی‌اچ ۳-۷ با استفاده از آب دیونیزه تهیه شدند. سپس ۵ گرم از هر نمونه به لوله منتقل و حرارت‌دهی نمونه‌ها به مدت یک ساعت در آب در حال جوش صورت گرفت. بعد از آن نمونه‌ها به سرعت توسط آب خنک و سپس به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه قرار گرفتند. حداقل غلظتی از پروتئین که ژل تشکیل شده با آن با معکوس کردن لوله حاوی ژل جریان پیدا نکند به‌عنوان توانایی تشکیل ژل در نظر گرفته شد.

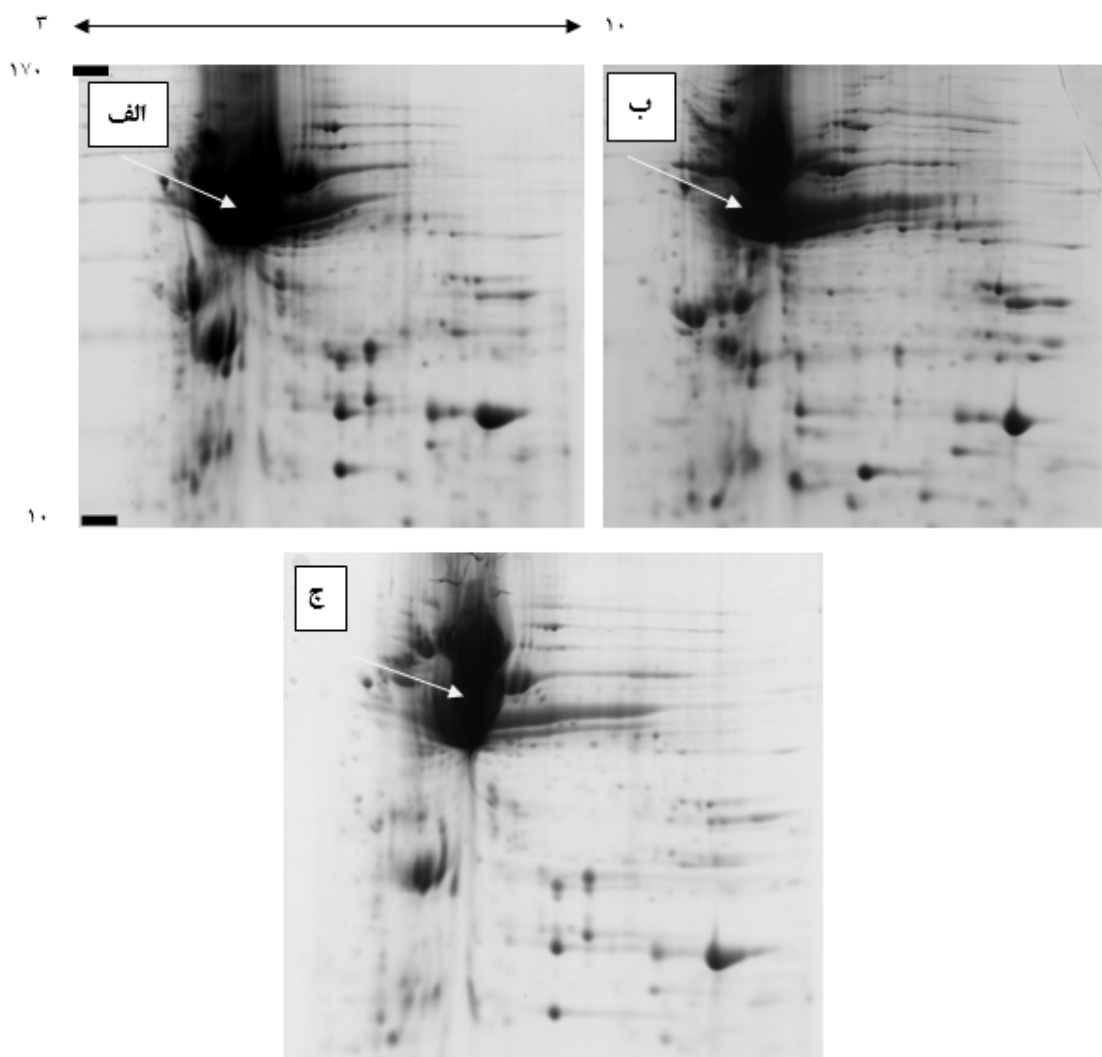
### کف‌کنندگی و پایداری کف

برای تهیه کف پروتئینی طبق روش Moure و همکاران (۲۰۰۲) عمل گردید. مقدار معینی از هر پروتئین (۵/۰ گرم) با ۴۰ گرم آب دیونیزه مخلوط، پی‌اچ نمونه (۳ تا ۷) تنظیم و سپس از دور ۲۰۰۰ بر

۴/۵ تا ۶/۵ قرار می‌گیرد. محل قرارگیری فازتولین در الگوی پروتئوم دو بعدی نشان داده شده است. فازتولین مهم‌ترین جزء تشکیل‌دهنده پروتئین لوبیا است. این نتیجه قبلاً توسط دیگر محققین نیز تایید شده است. این پژوهش‌ها نیز نشان‌دهنده محدوده پی‌اچ ایزوالکتریک ۵-۶ برای فازتولین است. *Fuente et al.*, 2012; *Natarajan et al.*, 2016; *Montoya et al.*, 2013).

نتایج همچنین نشان‌دهنده وزن مولکولی حدود ۴۰-۵۵ کیلو دالتون برای فازتولین لوبیا است. *Montoya* و همکاران (۲۰۰۹) نیز در تطابق با این مشاهده بیان کردند که وزن مولکولی فازتولین لوبیا در محدوده ۴۰ تا ۵۴ کیلو دالتون قرار دارد.

فرآیندی است که در طی آن ساختار سه‌بعدی پروتئین به دلیل استفاده از مواد دنا توره‌کننده از بین‌رفته تا پروتئین مستقل از ساختار و تنها بر اساس وزن مولکولی و پی‌اچ حرکت کند، پی‌اچ ایزوالکتریک حاصل از الکتروفورز دو بعدی با پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین طبیعی متفاوت خواهد بود. *Siddiq* و *Uebersax* (۲۰۱۳) بیان کردند که پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین لوبیادار حالت طبیعی حدود ۴/۵ است. این موضوع به خوبی در نمودار مربوط به حالیت پروتئین‌ها (شکل ۲) قابل مشاهده است. در این منحنی کمترین حالیت هر سه پروتئین، در پی‌اچ ۴/۵ قابل مشاهده است. اما به دلایلی که بیان گردید پی‌اچ ایزوالکتریک اغلب قسمت‌های پروتئین که توسط الکتروفورز دو بعدی تفکیک گردیده‌اند به منطقه خنثی نزدیک شده و در محدوده پی‌اچ

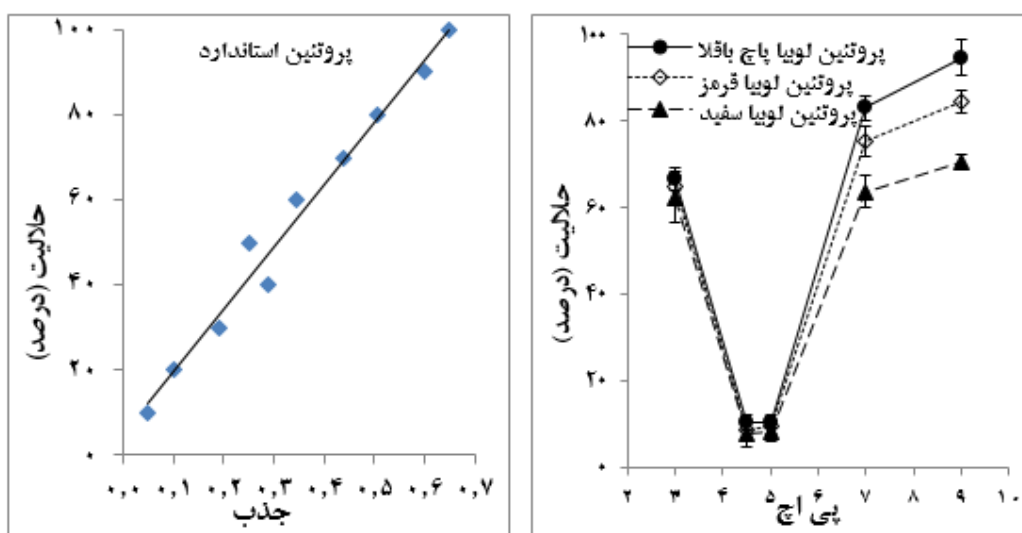


شکل ۱- الگوی الکتروفورز دو بعدی: پروتئین لوبیا با پی‌اچ بالا (الف)، پروتئین لوبیا قرمز (ب)، پروتئین لوبیا سفید (ج)

### حلالیت پروتئین

شکل ۲ نشان‌دهنده حلالیت سه پروتئین لوبیا در محدوده پی‌اچ ۳ تا ۹ است.

همانطور که شکل نشان می‌دهد کمترین میزان حلالیت برای هر سه پروتئین در پی‌اچ ۴/۵ (پی‌اچ ایزوالکتریک) مشاهده گردید و تغییر پی‌اچ به مقادیر بالاتر یا کمتر حلالیت پروتئین‌ها را افزایش داد. برهمکنش بین گروه‌های آبدوست پروتئین و مولکول‌های آب باعث حل شدن پروتئین می‌شود (Zayas, 1997). از دیگر عوامل اثرگذار بر حلالیت پروتئین، تعادل بین برهمکنش‌های پروتئین-آب و پروتئین-پروتئین است. برهمکنش‌های پروتئین-آب باعث افزایش حلالیت و برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین باعث کاهش حلالیت و



شکل ۲- نمودار حلالیت پروتئین استاندارد و سه پروتئین لوبیا باقلا، لوبیا قرمز و لوبیا سفید

۳۰ تا ۷۰ درصد برای پروتئین نخود، عدس قرمز، نارگیل، کانولا و سویا توسط دیگر محققین گزارش شده است (Boye *et al.*, 2010; Meng & Thaiphant, 2015; Chang *et al.*, 2015). در حالی که در این پی‌اچ حلالیت سه پروتئین لوبیا باقلا، قرمز و سفید به ترتیب برابر با ۸۳، ۷۵ و ۶۳ درصد بود.

در تمامی محدوده پی‌اچ مطالعه شده پروتئین لوبیا باقلا بیشترین حلالیت را داشت ( $P < 0.05$ ) (جدول ۱) و بعد از آن به ترتیب پروتئین لوبیا قرمز و پروتئین لوبیا سفید قرار داشتند. این مساله را می‌توان به بار سطحی بیشتر و آب‌گریزی سطحی کمتر پروتئین لوبیا باقلا نسبت به دو پروتئین دیگر نسبت داد.

بیشترین حلالیت هر سه پروتئین در پی‌اچ‌های قلیایی مشاهده شد. پیش از این منحنی یو شکل و حلالیت بیشتر پروتئین حبوبات در پی‌اچ‌های قلیایی توسط دیگر محققین گزارش شده بود (Meng & Ma, 2002; Boye *et al.*, 2010; Sathe, 2002). بطور مشابه، پروتئین لوبیا نیز دارای حلالیت بیشتر در محدوده پی‌اچ غیر اسیدی است. Sathe (۲۰۰۲) دلیل این مساله را مقدار زیاد اسیدهای آمینه اسیدی (اسید گلوتامیک و اسید آسپارتیک) در ساختار پروتئین لوبیا دانست و بیان کرد که اسیدهای آمینه اسیدی زیاد باعث قرار گرفتن پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین لوبیا در محدوده اسیدی می‌گردد (Sathe, 2002).

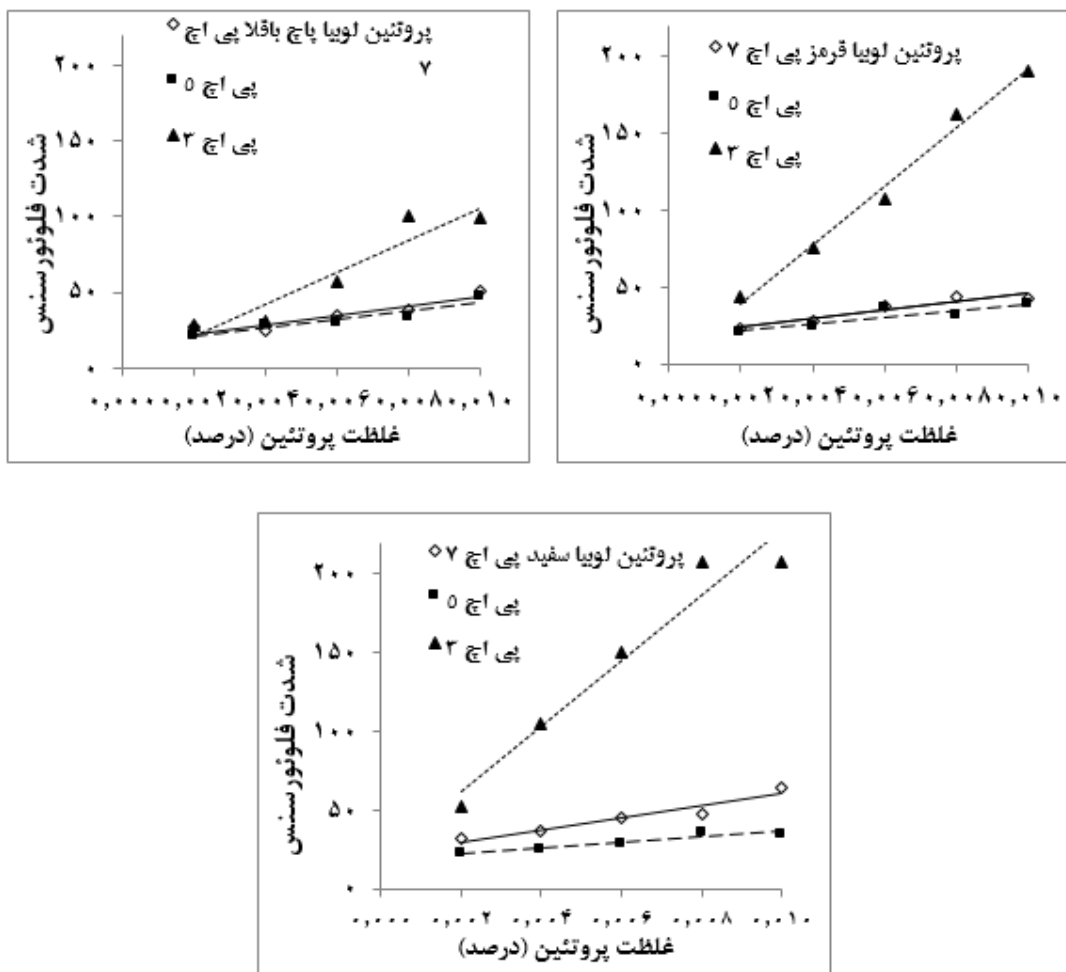
بطور کلی هر سه پروتئین لوبیا حلالیت بسیار خوبی در مقایسه با دیگر پروتئین‌های گیاهی داشتند. برای مثال در پی‌اچ ۷ حلالیت بین

| جدول ۱- اندیس های آماری P و F برای کمیت های مختلف |         |         |                         |
|---------------------------------------------------|---------|---------|-------------------------|
| ضریب تبیین                                        | اندیس P | اندیس F | منبع                    |
| ۹۹/۵                                              | ***     | ۴۰۹/۶۵  | حالیت                   |
| ۹۵/۱                                              | ***     | ۲۱/۷۸   | آب گریزی                |
| ۹۱/۰                                              | ***     | ۱۲/۷۶   | ظرفیت امولسیون کنندگی   |
| ۹۶/۰                                              | ***     | ۲۶/۶۷   | پایداری حرارتی امولسیون |
| ۹۱/۸                                              | ***     | ۱۲/۵۳   | کف                      |

### آب گریزی سطحی

پی‌اچ ۵ مشاهده شد در حالیکه نتایج نشان‌دهنده بیشترین میزان آب‌گریزی در پی‌اچ ۳ بود.

آب‌گریزی سطحی پروتئین‌ها در در پی‌اچ‌های مختلف در شکل ۳ قابل مشاهده است. برای هر سه پروتئین کمترین میزان آب‌گریزی در



شکل ۳- نمودار آب‌گریزی سطحی سه پروتئین لوبیا باقا، لوبیا قرمز و لوبیا سفید

کمتر از پی‌اچ ۷ بود. داده‌ها نشان‌دهنده این مسئله است که فعالیت امولسیفایری پروتئین‌ها با حلالیت پروتئین رابطه مستقیم و با آب‌گریزی پروتئین رابطه عکس دارد. دیگر محققین نیز نتیجه مشابهی را گزارش کردند (Lin & Zayas, 1987; Cheng *et al.*, 2009). در توجیه این مساله می‌توان بیان کرد که پروتئین‌هایی با حلالیت بیشتر امولسیفایرهای بهتری هستند. به عبارت دیگر پروتئین‌هایی با حلالیت کم امولسیفایرهای ضعیفی هستند زیرا پروتئین باید در ابتدا حل و سپس بتواند بر روی سطح ذرات روغن توزیع شود (Zayas, 1997).

بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی در پی‌اچ‌های ۵ و ۷ برای پروتئین لوبیا پاچ باقلا بدست آمد که می‌تواند به دلیل حلالیت بیشتر این پروتئین در این دو پی‌اچ باشد. گرچه علیرغم حلالیت بیشتر این پروتئین در پی‌اچ ۳ فعالیت امولسیفایری این پروتئین در پی‌اچ ۳ نسبت به دو پروتئین دیگر کمتر بود. از طرف دیگر پروتئین لوبیا سفید کمترین حلالیت را در همه پی‌اچ‌ها داشت اما در پی‌اچ ۳ فعالیت امولسیفایری بیشتری نسبت به پروتئین لوبیا قرمز و حتی پروتئین لوبیا پاچ باقلا داشت. بنظر می‌رسد که علاوه بر حلالیت پروتئین، فعالیت امولسیفایری می‌تواند تحت تاثیر دیگر پارامترهای مربوط به ساختار پروتئین مانند اندازه آن قرار گیرد. در واقع پروتئین‌هایی با اندازه بزرگتر دارای سطح قابل دسترس بیشتری هستند. این پروتئین‌ها باز آرایشی ساختاری بهتری بر روی سطح مشترک داشته و می‌توانند لایه محافظ قوی‌تر و با چگالی بیشتر تشکیل دهند (Lam & Nickerson, 2013). پژوهش‌های قبلی نشان داد که پروتئین لوبیا پاچ باقلا دارای اندازه کوچکتر در پی‌اچ ۳ نسبت به دیگر پی‌اچ‌ها است. بنابراین می‌توان انتظار داشت ساختار فشرده‌تر این پروتئین در پی‌اچ ۳ دلیل فعالیت امولسیفایری کمتر این پروتئین در این پی‌اچ است (Rahmati *et al.*, 2016).

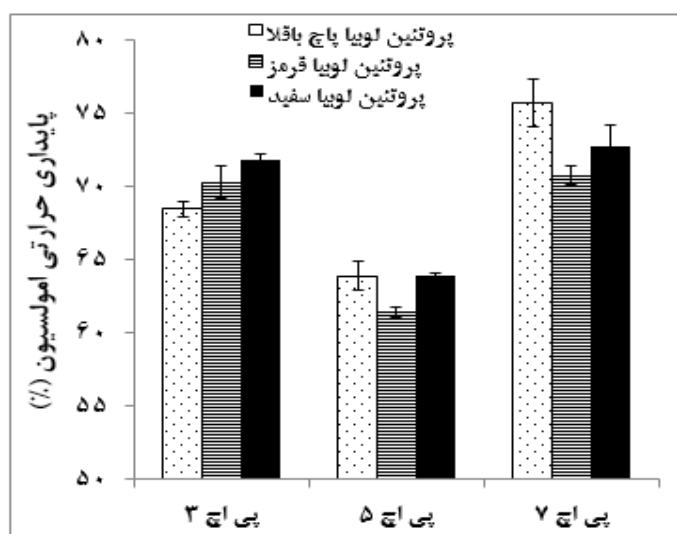
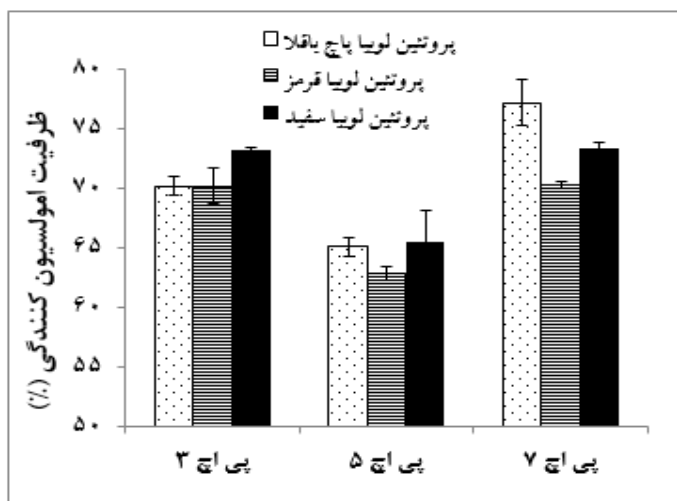
روندی مشابه با آنچه برای فعالیت امولسیفایری بیان شد برای پایداری حرارتی نیز مشاهده گردید (شکل ۴). نتایج نشان‌دهنده کاهش اندک پایداری امولسیون در اثر اعمال حرارت بود (حداکثر تا ۳ درصد). دیگر پژوهشگران نیز گزارش کردند که حرارت بالا باعث فلوک شدن ذرات روغن می‌شود (Depree Ghoush *et al.*, 2008; Savage & Depree, 2001). این محققین بیان نمودند که افزایش دما باعث افزایش حرکات براونی ذرات روغن و همچنین کاهش گرانبروی فاز پیوسته امولسیون می‌شود. آنها هر دو این عوامل را از دلایل کاهش پایداری امولسیون با افزایش حرارت دانستند (Depree & Savage, 2001).

بررسی‌ها نشان داده است که مولکول‌های پروتئین در پی‌اچ ۵ به دلیل عدم وجود بار الکتریکی و نیروی دافعه کافی توسط برهمکنش‌های آب‌گریز بهم متصل می‌شوند (Foegeding & Davis, 2011; Lam & Nickerson, 2013). این اتصال باعث ایجاد تجمعات پروتئینی شده و بنابراین برخی از گروه‌های آب‌گریز مخفی خواهند شد. در حقیقت این گروه‌های آب‌گریز در سطح پروتئین نخواهند بود و در معرض اتصال با پروب قرار ندارند. این نتیجه پیش از این توسط Jarpa-Parraa و همکاران (۲۰۱۵) که میزان آب‌گریزی سطحی پروتئین عدس را در پی‌اچ‌های مختلف بررسی کرده بودند نیز تایید شده بود (Jarpa-Parraa *et al.*, 2015). آب‌گریزی پروتئین‌ها در پی‌اچ ۳ بیشتر از این کمیت در پی‌اچ ۷ بود. بنظر می‌رسد رابطه‌ای معکوس بین حلالیت و آب‌گریزی پروتئین وجود دارد. این نتیجه پیش از این توسط Ma و Meng (۲۰۰۲) نیز برای پروتئین سویا گزارش شده بود (Meng & Ma, 2002). همچنین این نتیجه را می‌توان به بار الکتریکی سطحی بیشتر پروتئین‌های لوبیا در پی‌اچ ۷ نسبت داد. نتایج پژوهش‌های قبلی نشان داد که پروتئین هر سه لوبیای مورد بررسی در پی‌اچ ۷ بار الکتریکی سطحی بیشتری نسبت به پی‌اچ‌های ۳ و ۵ دارند (Rahmati *et al.*, 2016). بنابراین می‌توان انتظار داشت هرچه فاصله از نقطه ایزوالکتریک بیشتر باشد بار الکتریکی سطحی بیشتر و آب‌گریزی پروتئین کمتر خواهد بود.

پروتئین لوبیا پاچ باقلا و پروتئین لوبیا سفید به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار آب‌گریزی بودند ( $P < 0.05$ ). گرچه پروتئین لوبیا سفید در پی‌اچ ۵ کمترین آب‌گریزی را نشان داد که احتمالاً دلیل این مساله پیوندهای آب‌گریز بیشتر بین مولکول‌های این پروتئین و در دسترس نبودن این گروه‌ها برای اندازه‌گیری بوده است.

#### ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری حرارتی امولسیون

ارزیابی ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین‌ها نشان داد که این کمیت وابسته به نوع پروتئین و پی‌اچ می‌باشد (شکل ۴). برای هر سه پروتئین حداقل ظرفیت امولسیون‌کنندگی در پی‌اچ ۵ مشاهده شد که در تطابق با مشاهدات دیگر پژوهشگران بود (Cheng *et al.*, 2009). نامبردگان نیز بطور مشابه کمترین فعالیت امولسیفایری پروتئین را در پی‌اچ ۵ (محدوده ایزوالکتریک) مشاهده کردند. McClements (۲۰۰۹) دافعه الکترواستاتیک را مکانیسم اصلی در پایداری امولسیون‌های پایدار شده با پروتئین دانست. به این ترتیب در محدوده پی‌اچ ایزوالکتریک دافعه بین ذرات پوشیده شده با پروتئین کافی نبوده و نمی‌تواند مانع از بهم پیوستن ذرات روغن شود (McClements, 2005). برای هر سه پروتئین ظرفیت امولسیون‌کنندگی در پی‌اچ ۳



شکل ۴- ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری حرارتی امولسیون سه پروتئین لوبیا پاچ باقلا، لوبیا قرمز و لوبیا سفید

با بیشترین آب‌گیری بیشترین توانایی را در تشکیل ژل داشت. مشابه با این نتایج، دیگر محققین نیز آب‌گیری پروتئین را مهم‌ترین عامل در تشکیل ژل ذکر کردند (Zayas, 1997; Nakai *et al.*, 1986). در پی‌اچ ۵ ژلی مشاهده نشد. به دلیل عدم وجود بار الکتریکی کافی بر روی سطح پروتئین و حلالیت کم پروتئین در این محدوده از پی‌اچ، توانایی تشکیل ژل پروتئین ضعیف خواهد بود (Zayas, 1997). مقایسه داده‌ها با نتایج حاصل از دیگر پژوهش‌ها نیز نشان‌دهنده توانایی بسیار مناسب هر سه پروتئین در تشکیل ژل است. به‌عنوان مثال دیگر محققین غلظت بین ۱۴ تا ۱۸ درصد را برای تشکیل ژل توسط پروتئین‌های نخود، سویا و بادام‌زمینی لازم دانستند (Eltayeb *et al.*, 2011; Boye *et al.*, 2010).

#### توانایی تولید ژل

توانایی تشکیل ژل هر سه پروتئین در دامنه پی‌اچ ۳ تا ۷ در جدول ۲ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که تشکیل ژل تحت تأثیر غلظت پروتئین، آب‌گیری آن و پی‌اچ محیط قرار می‌گیرد. برای هیچ کدام از پروتئین‌ها در غلظت ۴ درصد ژل مشاهده نشد. اما با افزایش غلظت پروتئین به مقادیر بالاتر در پی‌اچ‌های مختلف ژل تشکیل شد. Eltayeb و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که با افزایش غلظت پروتئین از برهمکنش‌های بین پروتئین و مولکول‌های آب کاسته شده و برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین افزایش خواهند یافت (Eltayeb *et al.*, 2011). نتایج نشان‌دهنده رابطه مستقیم بین آب‌گیری پروتئین‌ها و توانایی تشکیل ژل آنها بود بطوری که پروتئین لوبیا سفید

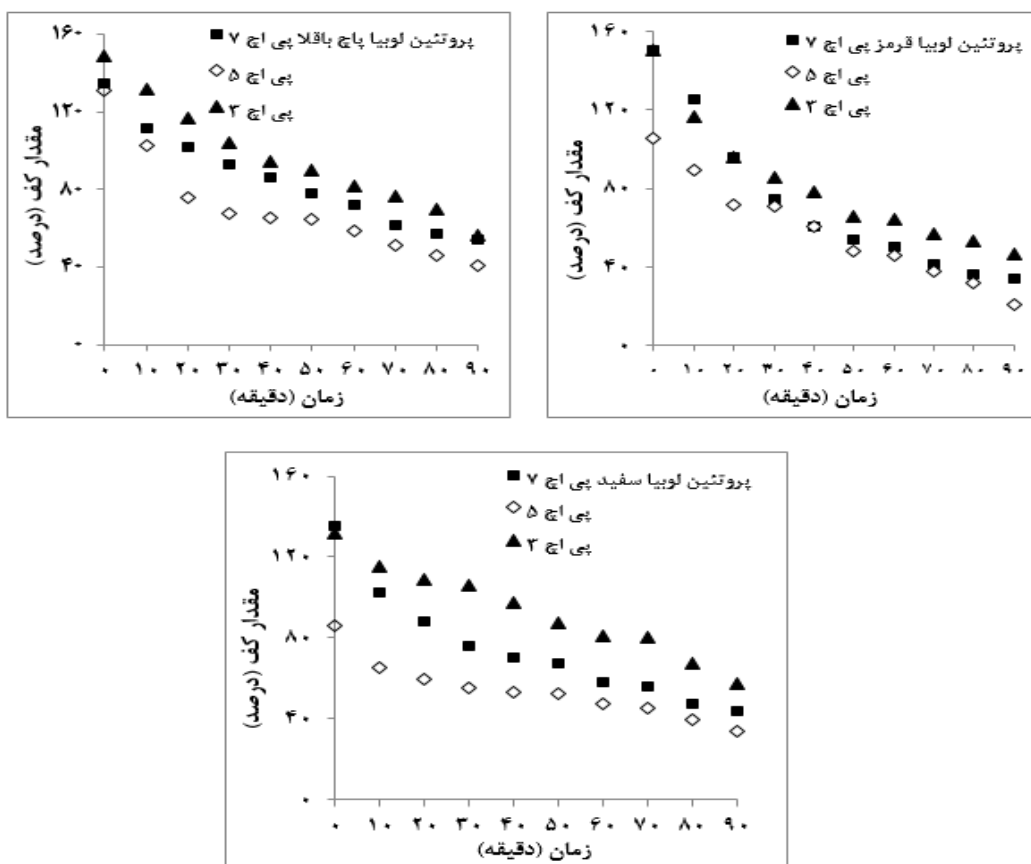
### کف‌کنندگی

برای هر سه پروتئین بیشترین کف‌کنندگی به ترتیب در پی‌اچ ۳ و بعد از آن ۷ و ۵ مشاهده گردید (شکل ۵). همانند آنچه برای ژل بیان گردید، در تشکیل کف نیز آب‌گریزی پروتئین و پیوندهای شکل گرفته بین مولکول‌های پروتئین

تاثیرگذارترین عامل بود. آب‌گریزی و پیوندهای آب‌گریز بین مولکول‌های پروتئین می‌تواند باعث تشکیل لایه‌ای پروتئینی در اطراف حباب‌های هوا شود. این برهمکنش‌ها می‌توانند با تشکیل لایه‌ای ضخیم کف پایداری را تولید کنند (Zayas, 1997; Adebawale & Lawal, 2003).

جدول ۲- تشکیل ژل سه پروتئین لوبیا پاچ باقلا، لوبیا قرمز و لوبیا سفید

| پی‌اچ ۳            | %۴      | %۶      | %۸      | %۱۰ | %۱۲ |
|--------------------|---------|---------|---------|-----|-----|
| پروتئین پاچ باقلا  | مایع    | ژل      | ژل      | ژل  | ژل  |
| پروتئین لوبیا قرمز | مایع    | ژل      | ژل      | ژل  | ژل  |
| پروتئین لوبیا سفید | نیمه ژل | ژل      | ژل      | ژل  | ژل  |
| پی‌اچ ۵            | %۴      | %۶      | %۸      | %۱۰ | %۱۲ |
| بدون ژل            |         |         |         |     |     |
| پی‌اچ ۷            | %۴      | %۶      | %۸      | %۱۰ | %۱۲ |
| پروتئین پاچ باقلا  | مایع    | مایع    | نیمه ژل | ژل  | ژل  |
| پروتئین لوبیا قرمز | مایع    | نیمه ژل | ژل      | ژل  | ژل  |
| پروتئین لوبیا سفید | مایع    | ژل      | ژل      | ژل  | ژل  |



شکل ۵- کف‌کنندگی و پایداری کف سه پروتئین لوبیا پاچ باقلا، لوبیا قرمز، لوبیا سفید

### نتیجه گیری

نتایج نشان دهنده تاثیر مستقیم ویژگی های ساختاری پروتئین بر عملکرد آن در سیستم های مختلف بود. حلالیت بیشتر باعث افزایش فعالیت امولسیفایری و آب گریزی پروتئین نیز در تشکیل ژل و کف موثر بود. پروتئین لوبیا پاچ باقلا با حلالیت بیشتر امولسیون پایداری تولید کرد در حالیکه پروتئین لوبیا سفید با آب گریزی بیشتر توانایی تشکیل ژل بهتری داشت بگونه ای که برای این پروتئین در غلظت ۶ درصد در دو پی اچ ۳ و ۷ ژل مشاهده گردید. بطور کلی نتایج این تحقیق تایید کننده این مطلب است که برای هر کدام از ویژگی های عملکردی پروتئین، این مولکول باید ویژگی های ساختاری منحصر به فرد داشته باشد.

به علاوه حلالیت کم پروتئین در پی اچ ۵ باعث کاهش فعالیت سطحی در این پی اچ می شود. دیگر محققین رابطه ای مستقیم بین کف کنندگی و حلالیت پروتئین را برای پروتئین هایی نظیر تخم مرغ، سویا و ماهی را گزارش کردند (Cherry & McWaters, 1981). دلیل این مساله را می توان به ناتوانی پروتئین نامحلول در کاهش کشش بین سطحی آب و هوا نسبت داد (Eltayeb et al., 2011). مقادیر مختلفی برای کف کنندگی پروتئین های مختلف گیاهی در دیگر منابع گزارش شده است. به عنوان مثال کف کنندگی بین ۴۰ تا ۵۰ درصد برای پروتئین های سویا، لوبین و نخود گزارش شده است. همچنین مقادیر ۲۰۰ درصد برای پروتئین دانه باقلا و ۳۱۵ درصد نیز برای نوعی دیگر از نخود مشاهده شده است (Sathe, 2002). بنابراین کف کنندگی سه پروتئین مورد مطالعه در این تحقیق (۹۰ تا ۱۵۰ درصد در پی اچ های مختلف) را می توان مناسب توصیف کرد. گرچه اعداد گزارش شده در منابع مختلف تابعی از شرایط خاص مورد بررسی از جمله پی اچ، غلظت پروتئین و شرایط تولید کف است

### منابع

- Adebowale, K. O., & Lawal, O. S., 2003, Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of macuna bean (*Macunapruriens*) protein concentrate. *Food Chemistry*, 83, 237-246.
- Aluko, R. E., Mofolasayo, O. A., & Watts, B. M., 2009, Emulsifying and foaming properties of commercial yellow pea (*Pisumsativum* L.) seed flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (20), 9793-9800.
- Asadpoor, A., Jafari, S. M., Sadeghi Mahoonak, A. Ghorbani, M., 2011, Evaluation of emulsifying capacity and effect of acidity and ionic strength on different legume flours. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 6 (3), 80-91.
- Bagheri, A., Mahmoudi, A., & Ghezeli, F., 2001, Common beans, research for crop improvement, Mashhad, JDM Press, pp: 10-38.
- Bengoechea, C., Romero, A., Aguilar, J. M., Cordobes, F., & Guerrero, A., 2010. Temperature and pH as factors influencing droplet size distribution and linear visco-elasticity of O/W emulsions stabilized by soy and gluten proteins. *Food Hydrocolloids*, 24 ( ), 783-791.
- Boye, J. I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., & Rajamohamed, S. H., 2010, Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International*, 43 (2), 537-546.
- Chang, C., Tu, S., Ghosh, S., & Nickerson, M. T., 2015, Effect of pH on the inter-relationships between the physicochemical, interfacial and emulsifying properties for pea, soy, lentil and canola protein isolates. *Food Research International*, 77 (3), 360-367.
- Cheng, J., Zhou, S., Wu, D., Chen, J., Liu, D., & Ye, X., 2009, Bayberry (*Myricarubra* Sieb. et Zucc.) kernel: A new protein source. *Food Chemistry*, 112 (2), 469-473.
- Cherry, J. P. & McWaters, K. H., 1981, Whippability and aeration, In: Cherry, P. (ed.), Protein Functionality in Foods, ACS Symposium Series 147, Washington, pp: 205-304.
- Damodaran, S., 1994, Structure function relationship of food proteins, In: Hettiarachchy, N.S. & Gregory, R. (ed.), Protein functionality in food systems, Florida, CRC Press, pp: 1-33.
- Depree, J. A., & Savage, G. P., 2001, physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology*, 12 (5), 157-163.
- Dziuba, J., Szerszunowicz, I., Nalecz, D., & Dziuba, M., 2014, Proteomic analysis of albumin and globulin fractions of pea (*Pisumsativum* L.) seeds. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 13 (2), 181-190.
- Eltayeb, A. R. S. M., Ali, A. O., Abou-Arab, A. A., & Abu-Salem, F. M., 2011, Chemical composition and functional properties of flour and protein isolate extracted from Bambara groundnut (*Vigna subterranean*). *African Journal of Food Science*, 5 (2), 82 - 90.
- Feyzi, S., Varidi, M., Zare, F. & Varidi, M. J., 2013, Study of chemical compositions, color parameters, and functional properties of fenugreek flour and their comparison with those of soy flour. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 2 (2), 121-138.

- Fennema, O. R., 1996, Food chemistry, New York, Marcel Dekker, pp: 217-330.
- Foegeding, E. A., & Davis, J. P., 2011, Food protein functionality: A comprehensive approach. *Food Hydrocolloids*, 25 (8), 1853-1864.
- Fuente, M., López-Pedrouso, M., Alonso, J., Santalla, M. De Ron, A. M., Álvarez, G., & Zapata, C., 2012, In-Depth Characterization of the phaseolin protein diversity of Common bean (*phaseolus vulgaris* L.) based on two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. *Food Technol. Biotechnol.*, 50 (3), 315-325
- Ghorbanian, F., 2014, Study of the Effect of grass pea (*Lathyrus sativus*) protein isolate on physicochemical properties of oil in water emulsion stabilized with xanthan gum. MS thesis, Ferdowsi University of Mashhad.
- Ghoush, M. A., Samhourim, M., Al-Holy, M., & Herald, T., 2008, Formulation and fuzzy modeling of emulsion stability and viscosity of gum-protein emulsifier in a model mayonnaise system. *Journal of Food Engineering*, 84 (2), 348-357.
- Hemmati, A., 2011, Management of chemical fertilizers consumption in legumes, Esfahan, Nosooh.
- Jarpa-Parraa, M., Bamdada, F., Tiana, Z., Zengb, H., Temellia, F., & Chena, L., 2015, Impact of pH on molecular structure and surface properties of lentil legumin-like protein and its application as foam stabilizer. *Colloids and Surfaces B: Bio interfaces*, 132, 45-53.
- Karaca, A. C., Low, N., & Nickerson, M., 2011, Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*, 44 (9), 2742-2750.
- Lam, R. S.H., & Nickerson, M. T., 2013, Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure-function approach. *Food Chemistry*, 141 (2), 975-984.
- Lin, C. S. & Zayas, J. F., 1987, Protein solubility, emulsifying stability and capacity of two defatted com germ proteins. *Journal of Food Science*, 52 (6), 1615-1619.
- Meng, G., & Ma, C. Y., 2002, Characterization of globulin from phaseolus angularis (red bean). *International Journal of Food Science and Technology*, 37 (6), 687-695.
- McClements, D. J., 2005, Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, New York, CRC press, pp: 129-166.
- Montoya, C. A., Lalles, J. P., Beebe, S., & Leterme, P., 2009, phaseolin diversity as a possible strategy to improve the nutritional value of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food Research International*, 43 (2), 443-449.
- Moure, A., Dominguez, H., Zunigab, M. E., Sotob, C., & Chamy, R., 2002, Characterisation of protein concentrates from pressed cakes of Guevinaavellana (Chilean hazelnut). *Food Chemistry*, 78 (2), 179-186.
- Nakai, S., Li-Chan, E., & Hayakawa, S., 1986, Contribution of protein hydrophobicity to its functionality. *Die Nahrung*, 30 (3-4), 327-336.
- Natarajan, S. S., Pastor-Corrales, M. A., Khan, F. H., & Garrett, W. M., 2013, Proteomic analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Journal of Basic & Applied Sciences*, 9, 424-437.
- Owusu-Apenten, R. K., 2002, Food protein analysis Quantitative effects on processing, Marcel Dekker, New York, pp: 47-64.
- Papalamprou, E. M., Doxastakis, G. I., & Kiosseoglou, V., 2010, Chickpea protein isolates obtained by wet extraction as emulsifying agents. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 90 (2), 304-313.
- Pauling, L., 2001, selected scientific papers (volume 2), *World scientific*, USA, and pp: 963-1090.
- Rahmati, N. F., Koocheki, A., Varidi, M., & Kadkhodae, R., 2016, Adsorption of Speckled Sugar bean protein isolate at oil-water interface: effect of ionic strength and pH. *International Journal of Biological Macromolecules*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.008>.
- Sathe, S. K., 2002, Dry bean protein functionality. *Critical Reviews in Biotechnology*, 22 (2), 175-223.
- Scippa, G. S., Rocco, M., Trupiano, D., Viscosi, V., DiMichele, M., Arena, S., Chiatante, D. & Scaloni, A. 2010. The proteome of lentil (*Lens culinaris* Medik.) seeds: discriminating between landraces. *Electrophoresis*, 31 (3), 497-506.
- Siddiq, M. & Uebersax, M. A., 2013, Dry beans and pulses production and consumption- an overview, In: Siddiq, M. & Uebersax, M. A. (ed.), Dry beans and pulses production, processing and nutrition, Wiley and Blackwell, Iowa, pp: 205-234.
- Thaiphanit, S., & Anprung, P., 2015, Physicochemical and emulsion properties of edible protein concentrate from coconut (*Cocos nucifera* L.) processing by-products and the influence of heat treatment. *Food Hydrocolloids*, 52, 756-765.
- Zayas, J., 1997, Functionality of proteins in food. Springer, New York.

## Structural and functional properties of three genotypes of common bean proteins (*Phaseolus vulgaris*)

N. F. Rahmati<sup>1</sup>, A. Koocheki<sup>2\*</sup>, M. Varidi<sup>3</sup>, R. Kadkhodae<sup>4</sup>

Received: 2016.08.16

Accepted: 2017.01.17

**Introduction:** Proteins are food ingredients with critical functional properties and participation in developing food products. So far, functional properties of several plant proteins such as pea, chickpea and lentil, groundnut, beach pea and bayberry have been investigated. Nowadays, there is an increasing demand for plant proteins because they are available and inexpensive. Legume proteins are important plant protein sources. However, except for soy, due to the inadequate information about their structural and functional properties, they do not have appropriate application as functional ingredients in food products. Beans are a great source of nutrients such as protein, carbohydrate, dietary fiber, minerals and vitamins. Based on the several research reports, different dry beans have 15-25% protein and they are the second group of legume seeds, after soy, cultivated throughout the world. As mentioned earlier, insufficient information about structure of legume proteins is the main reason why they are unexploited in food industry. Therefore, the goal of this research was to evaluate the functional properties of proteins from three types of common bean (Speckled Sugar, Red Mexican and Great Northern bean). We also have attempted to evaluate the structure-function relation of these three sources of bean proteins because it is known that there is a direct relation between chemical conformation and the function of a protein which must be considered in food processing.

**Materials and methods:** Protein of three types of common bean (Speckled Sugar, Red Mexican, and Great Northern) was extracted (pH 9, water flour 10:1). Afterwards, their physicochemical (including protein electrophoresis pattern, solubility, hydrophobicity), and functional properties (including emulsifying capacity, heat stability, gelation and foaming capacity) were evaluated to understand how bean protein structure influences its structure. Electrophoresis pattern was obtained based on 2 dimensions (pH and molecular weight). Protein solubility was evaluated by biuret method at pH range 3-9. ANS (8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid) was used to measure surface hydrophobicity (pH 3-7). Emulsion samples (1% protein, 25% sunflower oil, pH 3-7) were produced, then emulsion capacity and emulsion heat stability (80°C for 30 min) were evaluated. Gelation of proteins was evaluated at protein concentration of 4-12% at different pH values (3-7). Foaming capacity (%) was measured as the difference between volume after and before whipping. Foam stability (%) was recorded during 90 minutes.

**Results and Discussion:** Results showed that all proteins were rich in Phaseolin. In fact, this fraction was the major building fraction of all three bean proteins. Evaluation of solubility indicated that isoelectric point of three proteins was located at acidic pH range (pH 4.5). Results confirmed an indirect relation between protein solubility and hydrophobicity. All three protein isolates, similar to the other legumes protein, were more soluble at alkaline pH, while the highest surface hydrophobicity was observed at pH 3. Generally, Speckled Sugar bean protein had the most solubility, while Great Northern bean protein showed the highest surface hydrophobicity. Among three bean protein isolates, Speckled Sugar bean protein performed better as an emulsifier, whereas Great Northern bean protein formed gel at the lowest concentration (6% at pHs 3 and 7). In addition, foaming was higher at acidic pH (pH 3). Therefore, it was concluded that emulsifying capacity is mostly influenced by protein solubility, while gelation and foaming properties are affected by protein hydrophobicity. As the main consequence, the results achieved in this research confirmed that there is a direct relation between structure and the function of a protein. In fact, special structural properties are responsible for special functions.

1, 2 And 3. Ph.D student, Associate professor and Assistant professor, Department of food science and technology, Ferdowsi university of Mashhad.

4. Associate professor, Research institute for food science and technology, Department of food nanotechnology

(\*Corresponding author: koocheki@um.ac.ir)

**Key words:** Bean Protein, Structure, Function, Emulsion, Gel, Foam



## بررسی مکانیکی تخریب بافت خلال سیب زمینی طی فرآیند سرخ کردن

حسن صباغی<sup>۱</sup>، امان محمد ضیائی فر<sup>۲\*</sup>، مهدی کاشانی نژاد<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۴/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۰۵

### چکیده

در این پژوهش تغییرات بافت خلال سیب زمینی طی مراحل مختلف سرخ کردن شامل حرارت دهی اولیه، جوشش سطحی و مرحله نرخ کاهشی مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، فرآیند سرخ کردن در سه دمای ثابت ۱۴۵، ۱۶۰ و ۱۷۵ °C به مدت ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰، ۲۱۰ و ۲۴۰ ثانیه انجام گرفت. سپس با کمک ثبت سینتیک تغییرات دمای سطحی و مرکزی محصول توسط دستگاه ثبت داده در کامپیوتر، مراحل مختلف فرآیند از یکدیگر تفکیک شد. شدت حرارت دهی در هر مرحله با پارامتر ارزش پخت نیز تعیین گردید. همچنین رفتار تغییر بافت محصول توسط شاخص های مکانیکی به صورت مدول ظاهری الاستیسیته (مدول سکانت) و چقرمگی توصیف شد. سینتیک نرم شدگی در دماهای مختلف روغن با استفاده از برازش مدل تبدیل جزئی روی تغییرات مدول سکانت تخمین زده شد. نتایج نشان داد، بخش عمده تخریب بافت در حرارت دهی اولیه اتفاق می افتد و در انتهای مرحله جوشش سطحی تغییرات شاخص بافت رو به ثابت شدن رفت. با افزایش دمای روغن شیب رگرسیونی تغییرات تابع تبدیل جزء کاهش یافت و محصول سخت تر بود، اما میزان تعادلی مدول سکانت مستقل از دمای فرآیند بود. بافت مطلوب از نظر مصرف کننده در دمای ۱۶۰ °C با ارزش پخت متوسط بدست آمد.

واژه های کلیدی: بافت، خلال سیب زمینی، سرخ کردن، ارزش پخت، مدول سکانت.

### مقدمه

ترکیبات سازنده دیواره سلولی مانند پلی ساکاریدهای غیر نشاسته ای<sup>۴</sup> و لیگنین<sup>۵</sup> است. در واقع نرمی بافت به دلیل تخریب پلی ساکاریدهای دیواره سلولی می باشد. ژلاتینه شدن نشاسته در محدوده دمای ۶۸ °C بسیار سریع اتفاق می افتد، اما این امر اهمیت کمتری در بافت سیب زمینی دارد. زیرا مطابق شکل (۱) به دلیل ضخامت بالای دیواره سلولی، جدا شدن سلول ها حاصل از فشار تبخیر آب طی سرخ کردن بیشتر از متلاشی شدن سلولی<sup>۶</sup> است (Loon, 2005). در نتیجه احساس دهانی تردی<sup>۷</sup> در سیب زمینی سرخ شده به دلیل برش سالم سلول های سیب زمینی بوجود می آید (Pedreschi et al., 2001). در بررسی دستگاهی بافت محصولات تحت شرایط فرآوری، خصوصیات مکانیکی مانند حداکثر نیروی برشی (F<sub>max</sub>)، تنش برشی<sup>۸</sup> (τ<sub>max</sub>)، نیروی مورد نیاز به منظور رسیدن به حداکثر تنش برشی یا کار برشی (W) و درصد تغییرات شکل یا کرنش<sup>۹</sup> از پارامترهای مهم ذکر

بافت به عنوان یکی از مهمترین ویژگی های کیفی خلال سیب زمینی سرخ شده در نظر گرفته می شود. تفاوت واضحی میان بافت داخلی و خارجی خلال سیب زمینی وجود دارد: بافت خارجی ترد (پوسته) و بافت داخلی نرم (هسته). لایه خارجی نباید سفت و تیره باشد. در حالی که بخش داخلی باید نرم و فاقد بافت آبکی یا چسبنده باشد و همچنین از لایه های دیگر نیز جدا نشده باشد. پوسته تشکیل شده طی سرخ کردن ضخامت در حدود ۱ میلی متر دارد (Keller et al., 1986). تقریباً ۸۰ درصد حجم پوسته از فضای خالی پر شده از هوا و روغن تشکیل شده است. بافت داخلی شامل سلول های پخته شده و نسبتاً آگیری شده دارای بافتی مشابه سیب زمینی آب پز می - باشد (Jaswal, 1991).

بافت سیب زمینی سرخ شده تحت تاثیر ماده خشک، نشاسته و

4 Non-starch polysaccharides  
5 Lignin  
6 Cell rupture  
7 Mealy mouthfeel  
8 Shear stress  
9 Strain

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

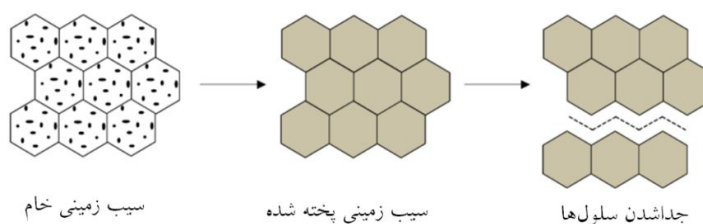
(Email: ziaiiifar@gmail.com)

(\*) نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.48350

(Gieroba and Dreszer, 1993).

شده است (Figiel and Frontczak, 2001). این عوامل در تعیین میزان آسیب پذیری محصول هنگام حمل و نقل نیز اهمیت دارند



شکل ۱- شماتیک تاثیر تیمار حرارتی بر بافت سیب زمینی، (Loon, 2005).

دوفاز عدم جوشش (شامل حرارت دهی اولیه و نقطه پایان حباب) و فاز جوشش (شامل جوشش سطحی و مرحله نرخ کاهشی) بیان شود. با در نظر گرفتن تغییرات دمای سطحی و مرکزی محصول مراحل مختلف فرآیند قابل تفکیک خواهد بود (Seruga and Budzaki, 2005). برای بیان شدت تاثیر شرایط فرآیند در مراحل مختلف بر روی پختگی محصول از شاخص ارزش پخت<sup>۱۲</sup> استفاده می‌گردد (Chiavaro *et al.*, 2006). ارزش پخت معادل مدت زمان پخت در ۱۰۰ °C برای محصول است که برای سبزیجات مختلف می‌تواند به کار رود (Awuah *et al.*, 2007). تخریب بافت سبزیجات طی عملیات حرارتی در قالب یک مدل ریاضی براساس تبدیل جزء<sup>۱۳</sup> قابل بررسی است. تابع تبدیل جزء نشان دهنده میزان واکنش مورد نیاز در زمان مشخص جهت تکمیل یک پدیده است (Rizvi and Tong, 1997). تخریب بافت علاوه بر مدول الاستیسیته، با محاسبه میزان کار لازم برای ایجاد شکست و پارگی در بافت یا به اصطلاح چقرمگی<sup>۱۴</sup> قابل بررسی است (Sahin and Sumnu, 2006). در علوم مواد، چقرمگی توانایی ماده برای جذب انرژی و تغییرات پلاستیکی بدون شکستن تعریف می‌شود (Larson, 2001).

Miranda و همکاران (۲۰۰۵) نرم شدن<sup>۱۵</sup> خلال‌های سیب زمینی را طی دوره پس از سرخ کردن<sup>۱۶</sup> بررسی کردند. آن‌ها انحراف از خط راست طی فرآیند را به عنوان شاخصی از نرم شدن به کمک یک نگهدارنده سیمی اندازه گیری کردند. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که انحراف از خط راست با افزایش دوره سرخ کردن زیاد شد. همچنین نتایج با اندازه گیری مدول ظاهری الاستیسیته هماهنگی نشان داد و مدول ظاهری نیز در طی زمان کاهش یافت.

Loon و همکاران (۲۰۰۷) اثر پیش خشک کردن (تا کاهش وزن

نسبت‌های مکانیکی مانند مدول الاستیسیته<sup>۱</sup> یا مدول یانگ<sup>۲</sup> و مدول‌های ظاهری<sup>۳</sup> الاستیسیته در بررسی بافت محصولات غذایی از دیدگاه مکانیک جامدات به کار می‌روند (Rojo and Vincent, 2009). به عنوان مثال مشخص شده است که ارتباط خطی میان تردی و مدول یانگ وجود دارد (Vickers and Christensen, 1980). مدول یانگ میزان سفتی مواد الاستیک ایزوتروپیک<sup>۴</sup> را نشان می‌دهد که در صورت وجود نسبت خطی بین تنش به کرنش در مواد جامد تعریف می‌شود (Thussu and Datta, 2012). در صورت عدم رابطه خطی بین تنش و کرنش، از مدول‌های ظاهری الاستیسیته استفاده می‌گردد. در منحنی تنش-کرنش این مدول‌ها شامل مدول تانژانت اولیه<sup>۵</sup> (شیب خط مماس در مبدا مختصات)، مدول سکانت<sup>۶</sup> (شیب خط قاطع از مبدا به هر نقطه دلخواه)، مدول تانژانت (شیب خط مماس در هر نقطه دلخواه از منحنی) و مدول چارد<sup>۷</sup> (شیب خط قاطع بین دو نقطه دلخواه از منحنی) می‌باشند (Sahin and Sumnu, 2006).

فرآیند سرخ کردن شامل چهار مرحله حرارت دهی اولیه<sup>۸</sup> (انتقال حرارت جابجایی طبیعی و عدم تبخیر)، جوشش سطحی<sup>۹</sup> (تشکیل پوسته و انتقال حرارت جابجایی اجباری)، مرحله نرخ کاهشی<sup>۱۰</sup> (افزایش ضخامت پوسته، طولانی ترین مرحله) و نقطه پایان حباب<sup>۱۱</sup> می‌باشد (Farkas *et al.*, 1996). این چهار مرحله می‌تواند به صورت

- 1 Modulus of elasticity
- 2 Young's modulus
- 3 Apparent modulus
- 4 Isotropic
- 5 Initial tangent
- 6 Secant
- 7 Chard
- 8 Initial heating
- 9 Surface boiling
- 10 Falling rate period
- 11 Bubble end point

- 12 Cook value
- 13 Fractional conversion
- 14 Toughness
- 15 Limpness
- 16 Post-Frying

فرآیند خشک نشد و بافت کلی می‌تواند تحت تاثیر ناحیه هسته به دلیل داشتن حداکثر رطوبت، در نظر گرفته شود. (۳) از چروکیدگی محصول چشم‌پوشی شد. در نهایت پذیرش کلی بافت محصول با توجه به معیار ارزش پخت و شرایط دمایی فرآیند بررسی می‌گردد.

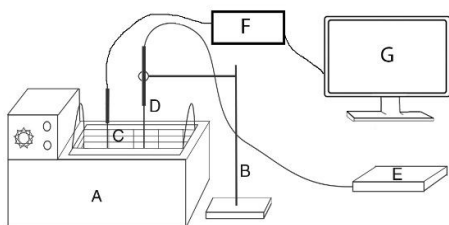
## مواد و روش‌ها

### آماده‌سازی خلال‌های سیب‌زمینی

سیب‌زمینی وارسته آگریا<sup>۲</sup> پاییزه از بازار محلی در استان گلستان تهیه گردید. بعد از شستشو و پوست‌گیری به روش دستی خلال‌هایی در ابعاد ۵×۵×۵ mm<sup>۳</sup> آماده شد. قبل از سرخ کردن عملیات آنزیم‌بری در آب با دمای ۸۵ °C به مدت ۳/۵ دقیقه مطابق با روش AOAC (۲۰۰۰)، انجام شد. جهت ثبت وزن اولیه، خلال سیب زمینی قبل از شروع فرآیند سرخ کردن توزین شد.

### عملیات سرخ کردن و ثبت دمای محصول

شکل (۲) تجهیزات مربوط به عملیات سرخ کردن را نشان می‌دهد. فرآیند سرخ کردن محصول در یک سرخ کن (Deep fryer: Model BDZ-5A-1) مجهز به سیستم کنترل‌کننده دما با ترموکوپل نوع K در دمای ثابت ۱۶۰، ۱۴۵، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰، ۲۱۰ و ۲۴۰ ثانیه بود. مشابه مدت ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰، ۲۱۰ و ۲۴۰ ثانیه بود. مشابه Sahin و همکاران (۱۹۹۹) جهت ثبت تغییرات دمایی محصول طی زمان، ترموکوپل نوع T بطور مجزا در فاصله حدود یک میلی‌متری سطح محصول و همچنین مرکز آن قرار گرفت و تغییرات دما با فاصله زمانی ۲ ثانیه بوسیله دستگاه ثبت داده<sup>۳</sup> (Model TC-08 Pico technology "RS-232") و نرم افزار پیکولاگ<sup>۴</sup> حین فرآیند در رایانه ثبت شد. این آزمایش در سه تکرار انجام گرفت.



شکل ۲- تجهیزات عملیات سرخ کردن و ثبت دما؛ سرخ کن (A)، پایه نگهدارنده (B)، ترموکوپل نوع T (C)، ترموکوپل نوع K (D)، کنترل کننده دما (E)، دستگاه ثبت داده (F)، رایانه (G)

۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد) و سرخ کردن در دماهای مختلف روغن را روی تردی خلال سیب‌زمینی بررسی کردند. تنظیمات بافت‌سنج (زاویه برش ۳۰ درجه و پروب ۱۵ میلی‌متری و سرعت ۴۰ mm/s) با دندان‌های جلویی انسان شبیه‌سازی شد و تعداد پیک‌ها در حین سوراخ شدن پوسته در نمودار نیرو-فاصله (آستانه نیروی ۰/۶ نیوتن، ایجاد تفاوت بین نمونه‌های ترد و غیرترد) برای اندازه‌گیری تردی استفاده شد. نتایج نشان داد که سرخ کردن در دمای ۱۸۰ °C، تردی بیشتری را نسبت به دمای ۱۶۰ و ۱۷۰ °C نشان می‌دهد. پیش خشک کردن تا کاهش وزن ۲۰٪ نیز با تشکیل حباب سطحی<sup>۱</sup>، تاثیر منفی روی تردی محصول داشت.

Romani و همکاران (۲۰۰۹) آزمون برش را برای اندازه‌گیری حداکثر نیروی برشی مورد نیاز در بافت‌سنجی خلال سیب‌زمینی انجام دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که با افزایش زمان سرخ کردن نیروی برشی مورد نیاز برای نمونه‌ها افزایش یافت و نمونه‌های بیش از حد سرخ شده، بیشترین میزان نیروی برشی را نشان دادند.

Thussu و Datta (۲۰۱۲) تغییرات بافتی خلال‌های سیب‌زمینی را به صورت تغییرات مدول یانگ در طی زمان بررسی کردند. نتایج نشان داد که بر خلاف تحقیقات پیشین، مدول یانگ با کاهش رطوبت نمونه‌ها طی فرآیند افزایش یافت. در زمان‌های اولیه سرخ کردن و همچنین در دماهای بالاتر، سرعت افزایش مدول یانگ بیشتر بود. Chiavaro و همکاران (۲۰۰۶) خصوصیات کیفی مانند نیروی برشی، سختی پوسته و ارزش پخت سطحی و مرکزی را برای سیب‌زمینی پخته شده با روش‌های حرارت‌دهی ترکیبی بخار و هوای داغ با جابجایی اجباری بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد، در روش ترکیبی پخت با بخار و جابجایی اجباری در نمونه‌هایی که ارزش پخت سطحی و مرکزی بیشتری داشتند، بطور معنی‌داری پوسته سخت‌تری تشکیل شد.

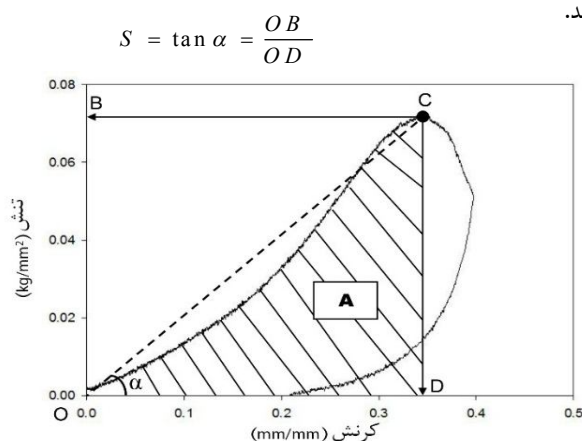
بیشتر پژوهش‌ها در زمینه بافت سنجی بصورت مقایسه شرایط مختلف فرآیند از نظر دمایی و زمانی بدون تفکیک مراحل سرخ کردن بوده است. در این پژوهش برای نخستین بار تغییرات بافتی در مراحل مختلف سرخ کردن با بررسی همزمان شاخص ارزش پخت، مدول ظاهری الاستیسیته (مدول سکانت) و چقرمگی مطالعه می‌گردد. همچنین رفتار مدول الاستیسیته طی زمان سرخ کردن با رابطه تجربی مدل تبدیل جزء بررسی می‌گردد و ارتباط پارامترهای مدل با دمای فرآیند نیز بررسی می‌شود. فرضیات رابطه تجربی تبدیل جزء همانند آنچه Miranda و همکاران (۲۰۰۵) در پژوهش خود در نظر گرفتند، به این صورت بیان می‌گردد: (۱) خلال سیب‌زمینی می‌تواند به صورت یک لایه نسبتاً سخت (پوسته) که پوشاننده یک ماده پرکننده نرم (هسته) است، در نظر گرفته شود. (۲) محصول به‌طور کامل حین

2 Agria  
3 Data logger  
4 Picolog

حرارت‌دهی در دمای مرجع °C ۱۰۰ را محاسبه نمود.

### محاسبه شاخص‌های بافتی

شکل (۳) نحوه محاسبه شاخص‌های بافتی شامل مدول ظاهری الاستیسیته (مدول سکانت (S)) و چقرمگی را نشان می‌دهد. نقطه دلخواه در تعریف مدول سکانت روی منحنی تنش-کرنش حداکثر تنش انتخاب شد. بنابراین مطابق شکل با استفاده از معادله (۲) میزان مدول سکانت بر حسب  $\text{kg/mm}^2$  برای هر نمونه محاسبه گردید. همچنین مشابه Czopek و همکاران (۲۰۰۸) چقرمگی برحسب  $\text{kg/mm}^2$ ، با محاسبه سطح زیر منحنی تنش-کرنش تا نقطه پارگی (حداکثر تنش) مطابق تعریف Sahin و Sumnu (۲۰۰۶)، برای دماها و زمان‌های مختلف فرآیند در نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ محاسبه شد.



شکل ۳- نحوه محاسبه شاخص‌های بافتی از منحنی تنش-کرنش؛ A: سطح زیر منحنی تا تنش حداکثر معادل با چقرمگی، C: حداکثر تنش، B, D: طول و عرض نقطه C، O: مبدا مختصات،  $\alpha$ : زاویه خط OC با محور افقی

### برازش مدل سنتیکی تبدیل جزء

تابع تبدیل جزء به صورت ریاضی مطابق معادله (۳) بیان می‌گردد (Devahastin and Niamnuy, 2010). این تابع جهت مدل‌سازی تغییرات مدول ظاهری الاستیسیته طی فرآیند به کار گرفته شد.

$$f = \left( \frac{S_t - S_e}{S_i - S_e} \right) \quad (3)$$

در اینجا در معادله فوق، S نشان‌دهنده مدول سکانت و نمادهای e و t به ترتیب نشان‌دهنده مقدار این پارامتر در زمان اولیه، زمان مشخص و مقدار تعادلی در زمان بی‌نهایت می‌باشد. برای توصیف این تغییرات، یک مدل نمایی کاهشی مطابق معادله (۴) مشابه آنچه Rizvi و Tong (۱۹۹۷) بیان کردند در نظر گرفته شد. از معادله (۴) به سادگی می‌توان معادله (۵) را نتیجه گرفت که با استفاده از جعبه

### اندازه‌گیری رطوبت و روغن

به منظور اندازه‌گیری رطوبت و روغن مطابق روش AOAC (۲۰۰۰) عمل شد. خلال‌های سیب‌زمینی سرخ‌شده برای اندازه‌گیری رطوبت نهایی در آون (Binder FD53) با دمای °C ۱۰۳ به مدت ۱۶ ساعت قرار گرفت. نمونه خشک حاصل از اندازه‌گیری رطوبت، برای استخراج روغن به روش سوکسله با خلال پترولیوم اتر به مدت ۶ ساعت، استفاده شد. این کار با هدف محاسبه میزان رطوبت نهایی نمونه بر مبنای وزن خشک بدون روغن انجام گرفت.

### ثبت پارامترهای بافتی با دستگاه بافت‌سنج

از نمونه‌های سرخ‌شده در دماهای مختلف آزمایش، نمونه آنزیم‌بری شده و شاهد (نمونه خام) برای انجام آزمون بافت‌سنجی با دستگاه آنالیز بافت (TA.XT2i, Stable Microsystems) استفاده شد. بافت‌سنجی مشابه Heredia و همکاران (۲۰۱۴) به صورت آزمون فشار<sup>۱</sup> به شکل نفوذی<sup>۲</sup> با پروبی با قطر ۲ میلی‌متر و سرعت ۲/۵ m/s و نیروی رهاساز<sup>۳</sup> ۵ گرم و عمق نفوذ تا ۲/۵ میلی‌متری داخل خلال سیب‌زمینی انجام شد. مقادیر نیرو (N)، تنش ( $\text{kg/mm}^2$ ) و کرنش (%) یا  $\text{mm/mm}$  در طی نفوذ پروب به خلال سیب‌زمینی توسط دستگاه ثبت گردید. نفوذ پروب در هر خلال سیب‌زمینی در مرکز و دو نقطه هم‌فاصله با استفاده از صفحه قرینه‌یابی دستگاه انجام شد و میانگین بدست آمده برای محاسبه شاخص‌های بافتی بکار گرفته شد.

### محاسبه ارزش پخت

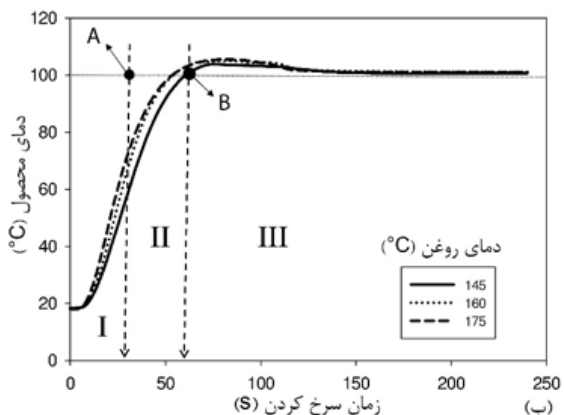
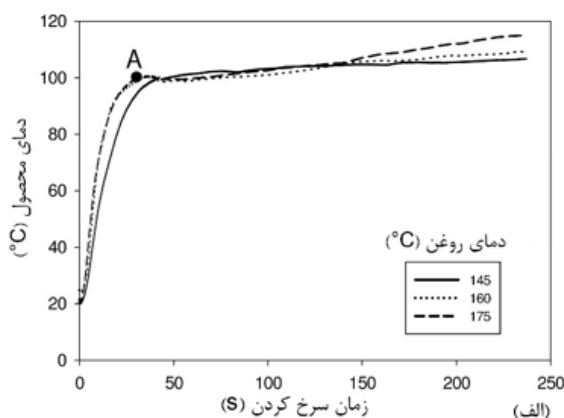
مطابق بیان Awuah و همکاران (۲۰۰۷)، ارزش پخت (C) با استفاده از معادله (۱) قابل محاسبه است:

$$C_{T_{ref}} = \int_0^t 10^{\frac{T - T_{ref}}{z}} dt \quad (1)$$

در این معادله، زمان فرآیند (t)، دمای سطحی یا مرکزی محصول (T) و دمای مرجع ( $T_{ref}$ ) برابر با نقطه جوش آب می‌باشد. متغیر (z) نیز نشان‌دهنده تغییرات دمایی لازم برای ۱۰ برابر شدن نرخ واکنش-های شیمیایی است. این متغیر مطابق Chiavaro و همکاران (۲۰۰۶) برای محاسبه نرخ پخت براساس دمای مرکزی و سطحی نمونه‌های سیب‌زمینی سرخ‌شده به ترتیب برابر با ۱۷ و °C ۳۳ در نظر گرفته می‌شود. با فرض بازه زمانی دو ثانیه در ثبت دما، می‌توان به بررسی تغییرات ارزش پخت طی فرآیند پرداخت. همچنین از مجموع ارزش پخت بر حسب ثانیه، در هر دمای روغن می‌توان مدت زمان کل

- 1 Compression
- 2 Penetration
- 3 Trigger force

می ماند و پس از اتمام آب سطحی محصول و تشکیل پوسته، شروع به افزایش به سمت دمای روغن می کند که این نتایج با مشاهده Farkas و همکاران (۱۹۹۶) سازگار است. مطابق بیان Alvis و همکاران (۲۰۰۹) می توان نتیجه گرفت که برای تمامی دماهای روغن، مرحله حرارت دهی اولیه (I) که طی آن دمای سطحی محصول به نقطه جوش آب (نقطه A در شکل ۴-الف و ب)) می رسد، محدود به ۳۰ ثانیه ابتدایی آغاز فرآیند بود.



شکل ۴- تغییرات دمای (الف) سطحی (ب) مرکزی محصول طی فرآیند و تفکیک مراحل مختلف سرخ کردن؛ A: آغاز جوشش سطحی، B: آغاز جوشش مرکزی، I: حرارت دهی اولیه، II: جوشش سطحی، III: مرحله نرخ کاهشی

مرحله جوشش سطحی (II) نیز که با زمان رسیدن به شرایط تبخیر پایا قابل شناسایی است، می تواند در بازه زمانی ۳۰-۶۰ ثانیه تعریف گردد. سپس طولانی ترین مرحله سرخ کردن به نام مرحله نرخ کاهشی (III) آغاز شد که طی آن دمای مرکزی محصول به نقطه جوش آب رسید (نقطه B در شکل ۴-ب)).

در این مرحله ضخامت پوسته به تدریج افزایش یافته و نرخ تبخیر در انتهای آن کاهش نشان داد که این مشاهده با Lioumbas و همکاران (۲۰۱۲) سازگار است. البته در ابتدای آغاز این مرحله، نقطه

ابزار برازش منحنی در نرم افزار متلب نسخه R2009a با سطح اطمینان ۹۵ درصد روی داده های مدول سکانت برازش شد.

$$\left( \frac{S_t - S_e}{S_i - S_e} \right) = \exp(-K_s t) \quad (4)$$

$$S_t = S_e + a \cdot \exp(-K_s t),, a = S_i - S_e, K_s > 0 \quad (5)$$

در معادلات فوق،  $K_s$  و  $a$  پارامترهای تابع هستند. برای بیان توصیف رفتار مدول ظاهری در دماهای مختلف، ثابت سینتیکی ( $K_s$ ) و میزان تعادلی مدول سکانت ( $S_e$ ) اهمیت دارد که در برازش محاسبه گردید. همچنین به منظور بدست آوردن ارتباط این دو عامل با دمای روغن نیز از معادله آرنیوس مطابق معادله (۷) استفاده شد.

$$A = A_0 \cdot \exp\left(-\frac{E_a}{R T}\right) \quad (7)$$

در این معادله،  $A$  نشان دهنده پارامتر  $K_s$  یا  $S_e$  می باشد.  $E_a$  نشان دهنده انرژی فعال سازی و  $R$  ثابت جهانی گازها برابر با ۸/۳۰۹ ژول بر مول بر کلوین می باشد.  $T$  دمای مطلق برحسب کلوین است (Troncoso and Pedreschi, 2009).

### ارزیابی حسی پذیرش کلی بافت

به منظور بررسی پذیرش کلی بافت بر مبنای ارزش پخت کل محاسبه شده، محصول سرخ شده در زمان نهایی فرآیند (۲۴۰ ثانیه) انتخاب شد و مشابه Maity و همکاران (۲۰۱۲) در هر دما، به روش نمره دهی از صفر (عدم پذیرش) تا ۱۰ (پذیرش قطعی) توسط ۱۰ نفر (دانشجویان صنایع غذایی) مورد ارزیابی حسی قرار گرفت.

### تجزیه و تحلیل آماری داده ها

آنالیز آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۱۹، بصورت طرح کاملاً تصادفی<sup>۱</sup> (CRD) با سطح اطمینان ۹۵٪ به منظور بررسی تاثیر تیمار دمای روغن روی میزان تعادلی مدول الاستیسیته، ارزش پخت کل و نمرات آزمون حسی پذیرش بافت انجام شد و مقایسه میانگین بصورت آزمون دانکن صورت گرفت.

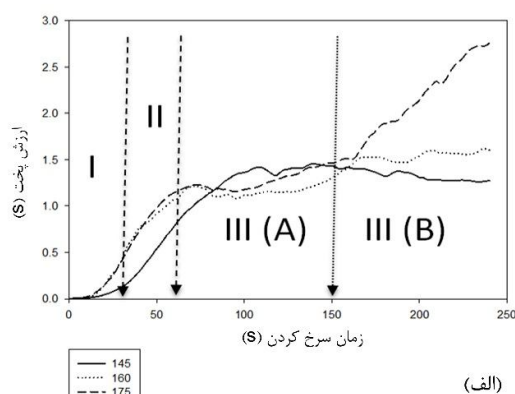
### نتایج و بحث

#### تفکیک مراحل مختلف فرآیند سرخ کردن

شکل (۴) سینتیک دمایی ثبت شده برای دمای سطحی و مرکزی محصول طی فرآیند سرخ کردن را نشان می دهد. دمای محصول برای دماهای بالاتر روغن سریع تر افزایش یافته است. دمای سطحی محصول زودتر به نقطه جوش آب رسیده و برای زمان کوتاهی ثابت

1 Completely randomized design

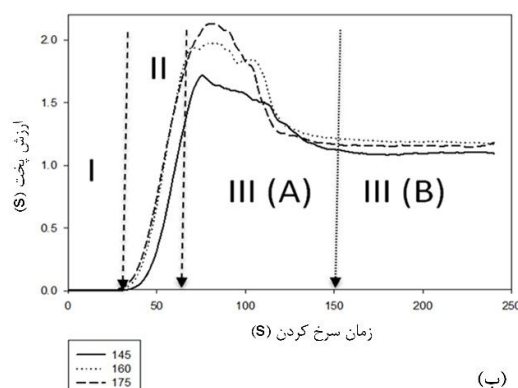
حین مرحله جوشش سطحی (II)، ارزش پخت سطحی در مقایسه با ارزش پخت مرکزی با سرعت آهسته تری تغییر می کند که این امر می تواند ناشی از میزان Z بالاتر در سطح و تاثیر کمتر دمای پوسته روی پختگی کامل محصول باشد. میزان حداکثری ارزش پخت براساس دمای مرکزی به دلیل افزایش فشار بخار در مرکز و در نتیجه تبخیر در دماهای بیشتر از  $100^{\circ}\text{C}$ ، بالاتر بدست آمد (ارزش پخت بالاتر از ۱ ثانیه). در حین مرحله نرخ کاهشی بدلیل کاهش تدریجی نرخ تبخیر ارزش پخت براساس دمای مرکزی به تدریج روند کاهشی نشان داد (بخش IIA) و سپس در مقداری ثابت باقی ماند (بخش IIB). Costa و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که نرخ خروج آب از محصول تا زمانی که رطوبت سطحی کاملاً خشک نشده باشد، افزایش می یابد و وجود حباب های هوا بدلیل تلاطم موجب افزایش انتقال حرارت به محصول و پخت سریع تر می گردد، سپس تا پایان فرآیند خروج رطوبت کاهش خواهد یافت و بدلیل کاهش آب سطحی محصول، دمای سطحی به سرعت به سمت دمای روغن افزایش می یابد. در اینجا نیز روند افزایشی سریع در ارزش پخت سطحی در پایان فرآیند مشاهده شد (بازه زمانی ۲۴۰-۱۵۰ ثانیه).



جوش اندکی بیش از  $100^{\circ}\text{C}$  باقی می ماند. Sahin و همکاران (۱۹۹۹) علت این امر را وجود اجزای محلول در آب بافتی و فشار داخلی محصول طی فرآیند گزارش کردند. آن ها بیان کردند که هرچه دمای فرآیند بیشتر باشد؛ به دلیل اتمام سریع تر رطوبت طول دوره دمای ثابت در نمودار سینتیک دمایی کاهش می یابد که در پژوهش حاضر این امر بخصوص برای نمودار سینتیک دمای سطحی به دلیل خشک شدن کامل آب سطحی محصول در بازه زمانی مورد آزمون، محسوس بود.

### تغییرات ارزش پخت

تغییرات ارزش پخت براساس دمای سطحی و مرکزی طی فرآیند در شکل (۵) نشان داده شده است. دمای روغن بیشتر، تغییرات ارزش پخت سطحی و مرکزی بالاتری را به دلیل افزایش سریع دمای محصول نشان داد. طی مرحله حرارت دهی اولیه (I)، بدلیل افزایش دما بدون جوشش، تغییرات ارزش پخت در برابر دما بسیار ناچیز و قابل چشم پوشی است. Chiavaro و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که پوسته موجب نفوذ راحت تر حرارت به هسته می گردد، اما در مراحل ابتدایی فرآیند خروج شدید بخار ممکن است مانع تشکیل پوسته شود.

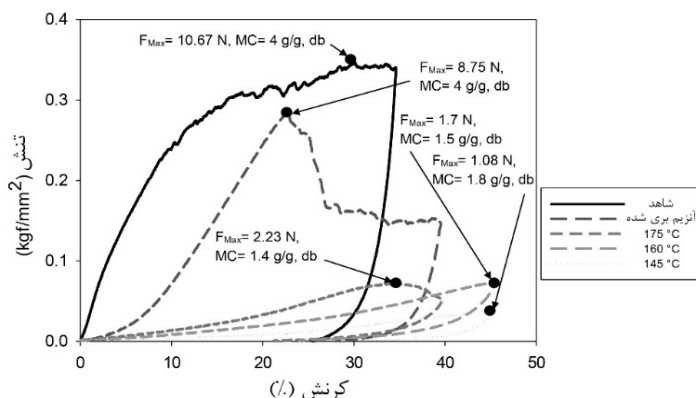


شکل ۵- تغییرات ارزش پخت براساس (الف) دمای سطحی (ب) دمای مرکزی در دماهای مختلف روغن و طی مراحل مختلف سرخ کردن؛ I: حرارت دهی اولیه، II: جوشش سطحی، IIIA و IIIB: مرحله نرخ کاهشی

منحنی مربوط به سفتی<sup>۱</sup> نمونه است و حداکثر تنش یا نیروی مورد نیاز نشان دهنده سختی<sup>۲</sup> نمونه می باشد. بنابراین با توجه به نمودارها، کاهش سفتی و سختی خلال سیب زمینی در نتیجه سرخ کردن قابل استنتاج است. جهت توصیف تغییرات نمودار بنابر گزارش Vincent و همکاران (۱۹۹۸) می توان گفت برای نمونه های سرخ شده در شرایط شدیدتر، افت نیرو در نقطه شکست مشاهده می شود.

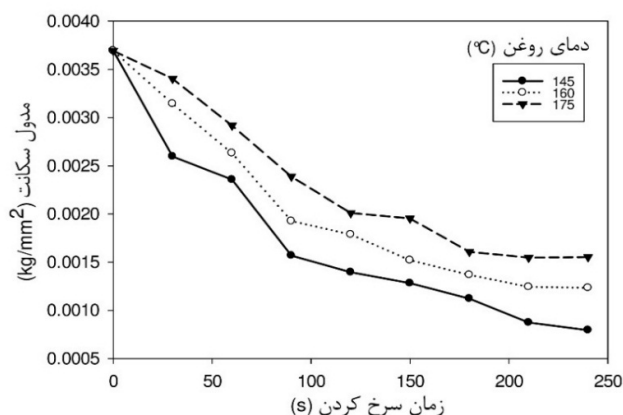
### تفسیر منحنی تنش-کرنش

شکل (۶) نمونه ای از نمودارهای تنش-کرنش برای شرایط مختلف فرآیند در زمان ۲۴۰ ثانیه برای نمونه آزمایشی نشان می دهد. در تنش یکسان، در نمونه های سرخ شده در دماهای بالاتر کرنش کمتری ایجاد می شود. این رفتار نشان دهنده سفتی بیشتر نمونه های سرخ شده در دمای بالا در مقایسه با سایر نمونه ها می باشد. Miranda و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که روند افزایشی در ابتدای



شکل ۶- تغییرات تنش در برابر کرنش برای نمونه‌های آزمایشی در ۲۴۰ ثانیه؛  $F_{Max}$ : حداکثر نیروی وارد شده بر حسب نیوتن، MC: محتوی رطوبت نهایی نمونه بر حسب گرم بر گرم ماده خشک بدون روغن

نظر می‌رسد. رطوبت نهایی محصول در دمای ۱۴۵، ۱۶۰ و ۱۷۵°C به ترتیب ۱/۹۲، ۱/۷۲ و ۱/۴۷ گرم بر گرم ماده خشک فاقد روغن بوده است. در واقع در این پژوهش تا رسیدن رطوبت محصول به حدود ۲۵ درصد رطوبت اولیه بر مبنای وزن خشک، این روند کاهشی مشاهده شده است. نتایج این مشاهده با نتیجه‌گیری Thussu و Datta (۲۰۱۲) موافقت ندارد. آن‌ها مشاهده کردند که مدول یانگ با افزایش زمان و دمای فرآیند زیاد می‌شود ولی برای آب‌پز کردن با افزایش زمان فرآیند کاهش مدول یانگ را گزارش کردند.



شکل ۷- تغییرات مدول سکانت برای بافت خلال سیب زمینی طی سرخ کردن

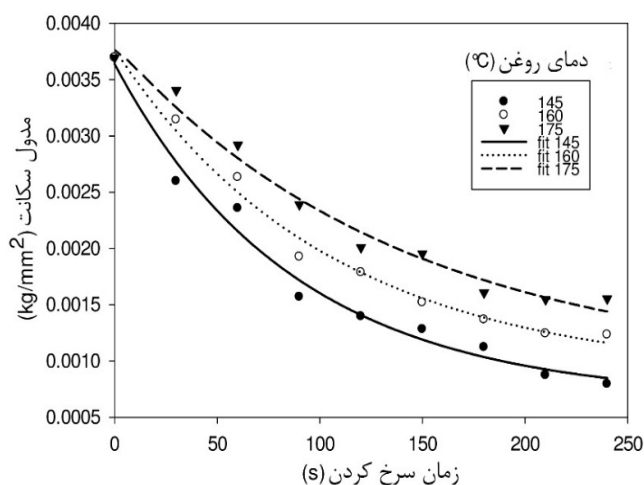
همانطور که از شکل (۸) مشخص است، تغییرات چقرمگی نیز در زمان‌های اولیه فرآیند شدیدتر است. مطابق گزارش Verlinden و همکاران (۱۹۹۵) ژلاتینه شدن نشاسته در محدوده دمای ۶۸°C بسیار سریع اتفاق می‌افتد. با توجه به دمای مرکزی ثبت شده محصول، محدوده دمایی برای ژلاتینه شدن در دماهای مختلف در

همچنین آن‌ها بیان کردند که به دلیل نفوذ تدریجی پروپ به محصول و مقاومت بیشتر، شکل نمودار برای شاهد بصورت دندان‌دار می‌باشد. با مقایسه بین میزان نیروی حداکثر بدست آمده برای نمونه‌های مختلف مشخص شد که بیشترین نیرو مربوط به نمونه شاهد (۱۰/۶۷ نیوتن) و حداقل نیرو مربوط به نمونه سرخ‌شده در دمای ۱۴۵ (۱/۰۸ نیوتن) بود. Miranda و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که عامل اصلی نرمی محصول، رطوبت باقی مانده در محصول است و در این مطالعه نیز نمونه سرخ شده در دمای بالاتر سطح رطوبت نهایی کمتر (۱/۴ گرم آب بر گرم ماده خشک) و سفتی بیشتری را نشان داد.

### تغییرات شاخص‌های بافتی طی سرخ کردن

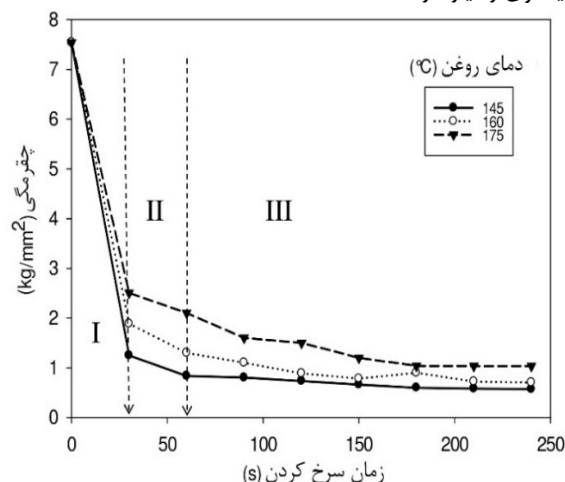
شکل (۷) تغییرات مدول سکانت را در حین سرخ کردن نشان می‌دهد. مدول سکانت برای دماهای بالاتر روغن بیشتر است که این امر نشان‌دهنده سختی بیشتر محصول می‌باشد. بخش بیشتر تغییرات بافتی بر اساس مدول ظاهری الاستیسیته در زمان‌های ابتدایی فرآیند اتفاق افتاد. بنابراین تغییرات عمده بافت در دو مرحله ابتدایی فرآیند سرخ کردن مشاهده شد. Miranda و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که بطور کلی تنش برشی در دقایق اولیه سرخ کردن بیشترین کاهش را نشان داده و پس از آن به کمترین مقدار خود رسیده یا با نرخ آهسته-ای کاهش می‌یابد. Romani و همکاران (۲۰۰۸) در ۵ دقیقه ابتدایی سرخ کردن روند کاهشی حداکثر نیروی برشی مورد نیاز برای محصول را مشاهده کردند و بیان کردند که از دقیقه ۵ تا ۹ این روند به دلیل اتمام رطوبت افزایشی شد. بنابراین گزارش محتوی رطوبت نهایی محصول پس از فرآیند برای بررسی تغییرات مدول ظاهری مهم به

این امر نشان دهنده استقلال سفتی نهایی بافت محصول از دمای فرآیند است. Rizvi و Tong (۱۹۹۷) بیان کردند که در صورتی که تخریب بافت در شرایط کنترل شده انجام گیرد و زمان فرآیند به اندازه کافی طولانی باشد، می توان گفت که در نهایت میزان تعادلی شاخص بافت بدست آمده مستقل از دمای فرآیند خواهد بود. ثابت سینتیکی تغییرات مدول سکانت نیز با افزایش دمای فرآیند کاهش معنی داری یافت که نشان دهنده سختی بیشتر محصول در دماهای بالا است و دمای  $160^{\circ}\text{C}$  مرز دمایی معنی دار شدن ثابت سینتیکی تعیین شد. Bouchon و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که بخش اصلی نرم شدگی بافت در مراحل ابتدایی فرآیند و به دلیل ژلاتینه شدن نشاسته و دناتوراسیون پروتئینی رخ می دهد. Rizvi و Tong (۱۹۹۷) گزارش کردند حداکثر نیرو به عنوان شاخص بافتی با گذشت زمان به تدریج کاهش یافته و به آهستگی به میزان تعادلی می رسد و با افزایش دما نیز نرم شدگی با شیب رگرسیونی کمتری اتفاق می افتد



شکل ۹- برازش مدل سینتیکی معادل با تابع تبدیل جزء روی داده های مدول سکانت

۳۰ ثانیه ابتدایی شروع فرآیند می باشد. در واقع مرحله جوشش سطحی مرحله بحرانی از نظر شدت تغییرات بافت بوده و تغییر شاخص بافت در انتهای این مرحله رو به ثابت شدن می رود. همچنین Kita و همکاران (۲۰۰۷) دریافتند که دمای سرخ کردن زیر  $170^{\circ}\text{C}$  بطور قابل توجهی سختی برش های سیب زمینی را کاهش می دهد. چقرمگی برای نمونه های سرخ شده در دمای بالاتر بیشتر بود که در این ارتباط Czopek و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند که نمونه های حاوی ماده خشک بیشتر کار برشی و حداکثر نیروی برشی بیشتری را نیاز دارند.



شکل ۸- تاثیر مراحل مختلف سرخ کردن روی شاخص چقرمگی بافت خلال سیب زمینی؛ I: حرارت دهی اولیه، II: جوشش سطحی، III: مرحله نرخ کاهشی

برازش مدل تبدیل جزئی روی مدول ظاهری الاستیسیته شکل (۹) برازش مدل سینتیکی با استفاده از روش تابع تبدیل جزء روی میانگین داده های مدول سکانت در دماهای مختلف را نشان می دهد. اطلاعات برازش و مقایسه آماری آن ها در جدول (۱) نشان داده شده است. میزان تعادلی مدول سکانت با افزایش دمای روغن افزایش یافت ولی اختلاف معنی دار میان مقادیر  $S_e$  با افزایش دما مشاهده نشد.

جدول ۱- اطلاعات برازش مدل سینتیکی معادل با نسبت تبدیل جزء برای تغییرات مدول سکانت طی زمان

| Rsqr                | $SSE (\times 10^{-8})$ | پارامترهای تابع         |                     |                        | دمای روغن $^{\circ}\text{C}$ |
|---------------------|------------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|------------------------------|
|                     |                        | $K_s (1/s)$             | a                   | $S_e (kg/mm^2)$        |                              |
| $0.9839 \pm 0.0036$ | $1/1749 \pm 0.1526$    | $0.115 \pm 0.0019^a$    | $0.0030 \pm 0.0003$ | $0.0007 \pm 0.00013^a$ | ۱۴۵                          |
| $0.9894 \pm 0.0101$ | $6/7620 \pm 0.2493$    | $0.096 \pm 0.0016^{ab}$ | $0.0029 \pm 0.0009$ | $0.0008 \pm 0.00018^a$ | ۱۶۰                          |
| $0.9816 \pm 0.0095$ | $9/8233 \pm 0.1234$    | $0.071 \pm 0.0021^b$    | $0.0028 \pm 0.0005$ | $0.0009 \pm 0.00015^a$ | ۱۷۵                          |

\* حروف در ستون  $S_e$  و  $K_s$  مقایسه بین دماهای فرآیند می باشند و حرف مشترک عدم اختلاف را نشان می دهد ( $p < 0.05$ ).

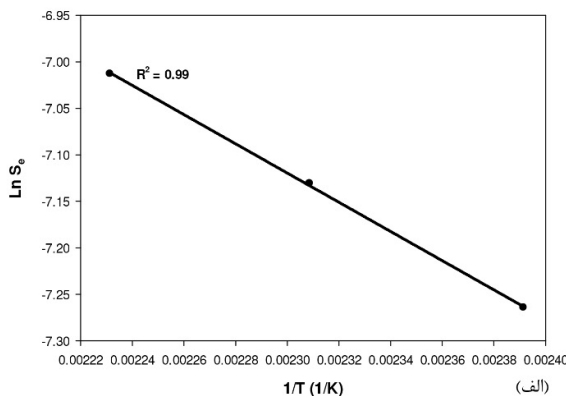
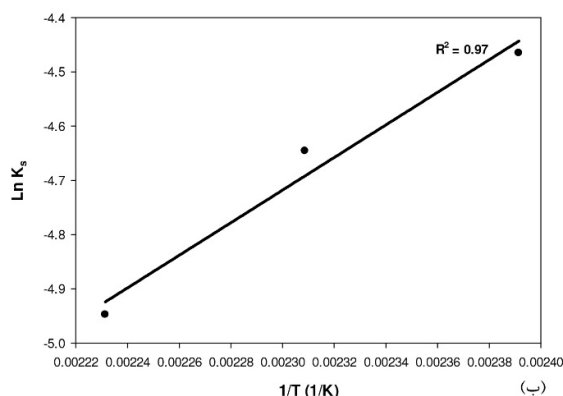
شده است. مقدار ثابت A و انرژی فعال سازی به ترتیب برای  $S_e$  برابر  $2.99 \times 10^{-2} \text{ kg/mm}^2$  و  $13047/12 \text{ J/mol}$  و برای پارامتر  $K_s$  به ترتیب  $1/s \times 10^{-6}$  و  $8/92$  و  $24949/74 \text{ J/mol}$  برآورد شد. بنابر

### وابستگی بافت به دمای فرآیند

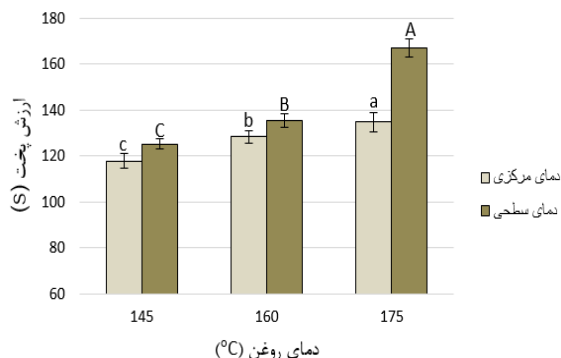
به منظور بدست آوردن ارتباط مدول سکانت با دمای روغن از رابطه آرنیوس برای  $S_e$  و  $K_s$  استفاده شد که در شکل (۱۰) نشان داده

گزارش Moyano و Pedreschi (۲۰۰۶) انرژی فعال‌سازی منفی نشان‌دهنده ارتباط معکوس ثابت سینتیکی مدل نمایی با دمای روغن

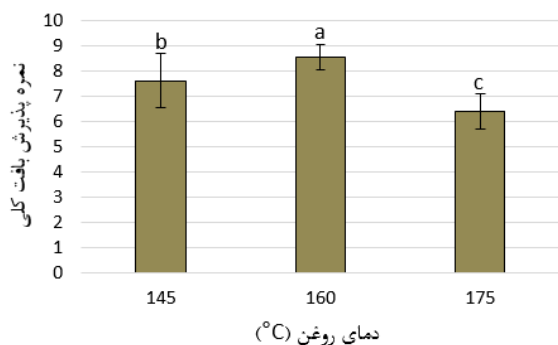
می‌باشد.



شکل ۱۰- اثر دمای روغن طبق معادله آرنیوس بر (الف) میزان تعادلی مدول سکانت (ب) و ثابت سینتیکی تغییر آن



شکل ۱۱- مقایسه میانگین ارزش پخت کل براساس دمای سطحی و مرکزی محصول سرخ‌شده در دماهای مختلف



شکل ۱۲- مقایسه نمرات آزمون پذیرش بافت کلی محصول سرخ شده در دماهای مختلف به مدت ۲۴۰ ثانیه

Maity و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که سرخ کردن در دمای بالا بدلیل خروج شدید رطوبت موجب ایجاد حباب در پوسته شده که نامطلوب است و بهترین نتایج ارزیابی حسی پذیرش بافت را برای

به‌منظور تاثیر شرایط دمایی بر پخت محصول و شدت تخریب بافت می‌توان معیار ارزش پخت کل (زمان معادل حرارت‌دهی محصول در دمای ۱۰۰ °C) یا زمان پخت را برای دماهای مختلف روغن بررسی نمود. نتایج آزمون آماری برای ارزش پخت کل براساس دمای مرکزی و سطحی به ترتیب در جدول (۲) و جدول (۳) نشان داده شده است. شکل (۱۱) نیز نتایج مقایسه میانگین ارزش پخت کل را در قالب نمودار میله‌ای نشان می‌دهد. با توجه به شکل، دماهای روغن مورد بررسی از نظر هر دو نوع ارزش پخت محاسبه شده اختلاف معنی دار نشان دادند. حرارت دهی سطحی در دمای ۱۷۵ °C بسیار شدیدتر از دو دمای دیگر آزمایش مشاهده شد. بنابراین به منظور جلوگیری از بیش پخت<sup>۱</sup> باید ارزش پخت مناسب جهت دستیابی به بافت مطلوب تعیین گردد.

جدول (۴) نتایج تجزیه واریانس نمرات ارزیابی حسی را نشان می‌دهد. همانطور که مشخص است اختلاف بین دماهای روغن از نظر پذیرش بافت محصول نهایی معنی دار شده است. این مقایسه در شکل (۱۲) نمایش داده شده است. دمای ۱۶۰ °C مطلوب‌ترین بافت را نشان داد. Pedreschi و همکاران (۲۰۰۱) بیان کردند که ماده خشک کم یا پختگی بیش از حد طی سرخ کردن، موجب ایجاد حفرات و فضای خالی در بافت داخلی محصول می‌شود که از نظر مصرف‌کننده نامطلوب است و در پژوهش حاضر نیز دمای ۵۱۷ کمترین پذیرش بافت را به خود اختصاص داد.

1 Over cooking

دمای °C ۱۵۰ گزارش کردند.

 جدول ۲- تجزیه واریانس برای مقایسه ارزش پخت در دماهای مختلف براساس دمای مرکزی محصول ( $P \leq 0.05$ )

| معنی داری (sig.) | F      | میانگین مربعات (MS) | درجه آزادی (df) | مجموع مربعات (SS) | تیمار (دمای روغن) |
|------------------|--------|---------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| ۰/۰۰۱            | ۲۶/۹۰۱ | ۲۲۰/۷۵۹             | ۲               | ۴۴۱/۵۱۹           | خطا               |
|                  |        | ۸/۲۰۶               | ۶               | ۴۹/۲۳۹            | کل                |
|                  |        |                     | ۸               | ۴۹۰/۷۵۷           |                   |

 جدول ۳- تجزیه واریانس برای مقایسه ارزش پخت در دماهای مختلف براساس دمای سطحی محصول ( $P \leq 0.05$ )

| معنی داری (sig.) | F       | میانگین مربعات (MS) | درجه آزادی (df) | مجموع مربعات (SS) | تیمار (دمای روغن) |
|------------------|---------|---------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| ۰/۰۰۰            | ۱۴۰/۸۳۱ | ۱۴۱۳/۸۳۴            | ۲               | ۲۸۲۷/۶۴۹          | خطا               |
|                  |         | ۱۰/۰۳۹              | ۶               | ۶۰/۲۳۵            | کل                |
|                  |         |                     | ۸               | ۲۸۸۷/۸۳۳          |                   |

 جدول ۴- تجزیه واریانس برای مقایسه نمرات پذیرش بافت کلی محصول سرخ شده در دماهای مختلف ( $P \leq 0.05$ )

| معنی داری (sig.) | F      | میانگین مربعات (MS) | درجه آزادی (df) | مجموع مربعات (SS) | تیمار (دمای روغن) |
|------------------|--------|---------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| ۰/۰۰۰            | ۱۸/۴۱۰ | ۱۱/۶۰۸              | ۲               | ۲۳/۲۱۷            | خطا               |
|                  |        | ۰/۶۳۱               | ۲۷              | ۱۷/۰۲۵            | کل                |
|                  |        |                     | ۲۹              | ۴۰/۲۴۲            |                   |

## نتیجه گیری

دمای فرآیند خواهد بود. به هر حال باید گفت تغییرات شدیدی در ارزش پخت سطحی در دمای °C ۱۷۵ مشاهده می شود که این امر موجب تشکیل حباب در زیر پوسته و در نتیجه عدم پذیرش نسبی مصرف کننده می گردد. دمای °C ۱۶۰ می تواند نرم شدگی مطلوب بافت را با توجه به ارزش پخت سطحی و مرکزی متعادل ایجاد نماید.

بخش عمده تغییرات بافتی در مراحل ابتدایی فرآیند سرخ کردن اتفاق می افتد و در انتهای جوشش سطحی تغییرات شاخص بافت رو به ثابت شدن می رود. با افزایش دمای روغن شیب رگرسیونی تغییرات تابع تبدیل جزء کاهش یافته و محصول سخت تر خواهد بود ولی با این وجود میزان تعادلی شاخص بافتی در زمان بی نهایت مستقل از

## منابع

- Alvis, A., Vélez, C., Rada-Mendoza, M., Villamiel, M., and Villada H.S., 2009, Heat transfer coefficient during deep-fat frying. *Food Control*, 20, 321-325.
- AOAC, 2000, Official methods of analysis. 17th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, *Unites States*.
- Awuah, G. Ramaswamy, H., and Economides, A., 2007, Thermal processing and quality: principles and overview. *Chemical Engineering and Processing*, 46, 584-602.
- Bouchon, P., Hollins, P., Pearson, M., Pyle, D. L., and Tobin, M. J., 2001, Oil distribution in fried potatoes monitored by infrared microspectroscopy. *Journal of Food Science*, 66, 918-923.
- Chiavaro, E. Barbanti, D. Vittadini, E. and Massini, R., 2006, The effect of different cooking methods on the instrumental quality of potatoes (cv. Agata). *Journal of Food Engineering*, 77, 169-178.
- Costa, R.M., Oliveira, F.A.R., Delaney, O., and Gekas, V., 1999, Analysis of the heat transfer coefficient during potato frying. *Journal of Food Engineering*, 39, 293-299.
- Czopek, A.T, Figiel, A., and Barrachina, A.A.C., 2008, Effects of potato strip size and pre-drying method on French fries quality. *European Food Research and Technology*, 227, 757-766.
- Devahastin, S., and Niamnuy, C., 2010, Modelling quality changes of fruits and vegetables during drying: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 1755-1767.
- Farkas, B.E., Sing R.P., and Rumsey T.R., 1996, Modelling heat and mass transfer in immersion frying. I, Model development. *Journal of Food Engineering*, 29, 211-226.

- Figiel A., Frontczak J., 2001, The shearing resistance of maize kernels. *Inżynieria Rolnicza*, 2, 9-55.
- Gieroba, J., and Dreszer, K., 1993, An analysis of the reasons for mechanical grain damage in working sets of agricultural machines. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 399, 69-76.
- Heredia, A., Castelló, M. L., Argüelles, A., and Andrés, A., 2014, Evolution of mechanical and optical properties of French fries obtained by hot air-frying. *LWT - Food Science and Technology*, 57, 755-760.
- Jaswal, A.S., 1991, Texture of French fries potato: Quantitive determinations of non-starch polysaccharides. *American Journal of Potato Research*, 68, 835-841.
- Keller, C., Escher, F., and Solms, J.A., 1986, Method for localizing fat distribution in deep fat fried potato products. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 19, 346-348.
- Kita, A., Lisińska, G., and Gołubowska, G., 2007, The effects of oils and frying temperatures on the texture and fat content of potato crisps. *Food Chemistry*, 102, 1-5.
- Larson, B., 2001, Toughness. NDT Education Resource Center, Iowa State University.
- Lioumbas, J. S. Kostoglou, M. and Karapantsios, T. D., 2012, On the capacity of a crust-core model to describe potato deep-fat frying. *Food Research International*, 46, 185-193.
- Loon, W.A.M., 2005, Process innovation and quality aspects of French fries. PhD Thesis. The Netherlands: *Wageningen University*.
- Loon, W.A.M., Visser, J.E., Linssen, J.P.H., Somsen, D.J., Klok, H.J., and Voragen, A.G.J., 2007, Effect of pre-drying and par-frying conditions on the crispness of French fries. *European Food Research and Technology*, 225, 929-935.
- Maity, T., Raju, P. S., and Bawa, A. S., 2012, Effect of Freezing on Textural Kinetics in Snacks During Frying. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 155-165.
- Miranda, M.L., Aguilera, J.M., and Beriestain, C.I., 2005, Limpness of fried potato slabs during post-frying period. *Journal of food process engineering*, 28, 265-281.
- Moyano, P.C., and Pedreschi, F., 2006, Kinetics of oil uptake during frying of potato slices: Effect of pre-treatments. *LWT - Food Science and Technology*, 39, 285-291.
- Pedreschi, F., Aguilera, J.M., and Pyle, L., 2001, Textural characterization and kinetics of potato strips during frying. *Journal Food Science*, 66, 314-318.
- Rizvi, A. F., and Tong, C., 1997, A critical review – fractional conversion for determining texture degradation kinetics of vegetables. *Journal of Food Science*, 62, 1-7.
- Rojo, F.J., and Vincent, J.F., 2009, Objective and subjective measurement of the crispness of crisps from four potato varieties. *Engineering Failure Analysis*, 16, 2698-2704.
- Romani, S., Bacchiocca, M., Rocculi, P., and Rosa, M.D., 2008, Effect of frying time on acrylamide content and quality aspects of French fries. *European Food Research and Technology*, 226, 556-560.
- Romani, S., Bacchiocca, M., Rocculi, P., and Rosa, M.D., 2009, Influence of frying conditions on acrylamide content and other quality characteristics of French fries. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 582-588.
- Sahin, S. and Sumnu, S. G., 2006, Physical Properties of Foods. Springer publication, 71-75.
- Sahin, S., Sastry, S.K., and Bayindirli, L., 1999, Heat Transfer During Frying of Potato Slices. *LWT - Food Science and Technology*, 32, 19-24.
- Šeruga, B., and Budžaki, S., 2005, Determination of thermal conductivity and convective heat transfer coefficient during deep fat frying of “Kroštula” dough. *European Food Research and Technology*, 221, 351-356.
- Thussu, S., and Datta, A.K., 2012, Texture prediction during deep frying: A mechanistic approach. *Journal of Food Engineering*, 108, 111-121.
- Troncoso, E., and Pedreschi, F., 2009, Modeling water loss and oil uptake during vacuum frying of pre-treated potato slices. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 1164-1173.
- Verlinden, B.E., Nicolai, B.M., and Baerdemaeker, J.D., 1995, The starch gelatinization in potatoes during cooking in relation to the modelling of texture kinetics. *Journal of Food Engineering*, 24, 165-179.
- Vickers, Z.M., and Christensen, C.M., 1980, Relationships between sensory crispness and other sensory and instrumental parameters. *Journal of Texture Studies*, 11, 291-307.
- Vincent, J. F. V., 1998, The quantification of crispness. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78, 162-168.



## Mechanical study for texture degradation of potato strip during frying process

H. Sabbaghi<sup>1</sup>, A. M. Ziaifar<sup>\*2</sup>, M.Kashaninejad<sup>3</sup>

Received: 2015.07.12

Accepted: 2016.01.25

**Introduction:** Texture is one of the most important attribute in foods and is always issues for the manufacturing of fried products, because texture plays a crucial role in consumer acceptance and the perceived quality of foods. Prediction of changes in texture during frying can be helpful in process control. Structurally, this quality parameter in fried potato strip made from the formation of a composite structure with two layers as: dry and oily outer layer (crust), and a moist or soft interior layer (core). So, the explanation of texture development during frying is difficult because of the innate heterogeneity of the fried potato tissue. Moreover, both thermal degradation and texture development are functions of variables such as processing time, oil temperature and vaporized moisture of product. Textural changes during frying described as the result of various physical, chemical, and structural changes involved in the frying process. One solution to reduce the complexity of real bio systems in engineering is using various empirical correlations. Application of these relations for prediction of textural changes during frying can help us for understand the proper conditions to achieve desired texture. The purpose of the present investigation was to study the influence of the frying temperatures on texture of potato strips. In fact, textural changes during various stages of frying potatoes including initial heating, surface boiling and falling rate period were investigated. Texture evaluation is done by mechanical measurements, because the stimulus in texture perception is mainly mechanical. Also, textural studies are not clearly performed up to now with focus on cook value as a main factor in potato frying. According to the definition of cook value, this parameter indicates total time of baking in 100 °C. Fractional conversion applied as a technique for analyzing texture degradation kinetics and softening of vegetables upon prolonged heating. A few assumptions were made during study: i) Potato shrinkage is neglected ii) Product is not completely dried iii) The stages of frying were considered separable only based on surface and center temperature iv) Texture of potato strips affected by cook values of each frying stages.

**Materials and methods:** The potato strips with specified size fried at a constant temperature of 145, 160 and 175 °C for 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 seconds. Then, various stages of the process were separated using surface and center temperature profiles of product that were recorded by data logger and T-type thermocouple in computer. Heating extremity of each stage was determined using cook value parameter. Mechanical properties such as apparent modulus of elasticity (Secant modulus) and toughness were used to show which occurred during frying. The secant modulus (S) variations described using fractional conversion model. The degree of cooking for each sample was expressed in term of cook value and its relationship with the overall acceptance of product was examined. Finally, the suitable temperature was determined by sensory evaluation to achieve the desired texture to determine the proper cook value and to prevent over cooking of product.

**Results and Discussion:** The stages of frying by immersion for experimental conditions can be divided as: I. Initial heating (The first 30 seconds for all oil temperature) II. Surface boiling (30-60 s). III. Falling rate (up to end, longest period). IV. Bubble end point (not considered). Generally, higher oil temperature showed larger center and surface cook values because of the fast temperature increase inside product. During initial heating period (I) because of temperature increase without boiling, the changes in cook values versus time are negligible. Surface cook value increased slowly compared with core during surface boiling. Maximum cook value for core temperature was higher, because of the vapor pressure at the center of the product and thus water evaporation at temperatures above 100 °C (cook value above 1 second). During falling rate period due to gradual reduction of evaporation rates, and thus the vapor pressure drop within product, boiling temperature reduced to 100 ° C. The

2 , 2 and 3- Ph. D. Candidate, Associate Professor and Professor of Food Processing Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources

(\*Corresponding author: ziaifar@gmail.com)

major part of texture destruction occurred during initial heating period and the changes of textural characteristic were going to be constant at the end of surface boiling. The slope of the regression line for fractional conversion model decreased as temperature increased and therefore product was harder, but equivalent value of secant modulus was independent of process temperature. The consumer texture desired was found for temperature of 160 °C with medium cook value. The kinetics of potato softening followed an exponential decay equation with good correlation on empirical data. The temperature dependence of the degradation rate was reliably modeled by the Arrhenius equation. Activation energy ( $E_a$ ) for model parameters  $S_e$  and  $K_s$  was 13047.12 and -24949.74 J/mol, respectively. Negative  $E_a$  for kinetic constant ( $K_s$ ) indicated an inverse relationship with oil temperature. In addition, elevated oil temperatures caused less softening of French fries because of higher cook value and thus higher evaporation rate.

**Keywords:** Texture, Potato strip, Frying, Cook value, Secant modulus, Fractional conversion.



## تشخیص هم‌زمان باکتری‌های بیماری‌زای لیستریا منوسایتوژنز، اشرشیا کلی O157:H7 و جنس سالمونلا به روش multiplex PCR در سبزیجات آماده مصرف

صفیه رجب زاده شانديز<sup>۱</sup>، معصومه بحرینی<sup>۲\*</sup>، میرزا محمدرضا شریف مقدم<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۴

### چکیده

آلودگی‌های باکتریایی مواد غذایی یکی از مهمترین مسائل در زمینه ایمنی مواد غذایی میباشد. لذا استفاده از روشهای تشخیصی سریع و دقیق حائز اهمیت است. یکی از مهم ترین این روشها، تکنیک مولکولی PCR است که امکان تشخیص دقیق و با حساسیت بالا در مدت زمان کم، از مزایای آن است. اما در صورتیکه تشخیص چندین باکتری بیماریزا مد نظر باشد، multiplex PCR (mPCR) بهترین گزینه خواهد بود. در این تحقیق از سه باکتری لیستریا منوسایتوژنز، اشرشیا کلی O157:H7 و جنس سالمونلا (سالمونلا انتریکا سرووار تیفی موریوم) که از باکتریهای بیماریزای مهم منتقل شده از طریق آب و مواد غذایی هستند استفاده شد و به کاهو، که نمونه ای از سبزیجات پر مصرف در تهیه سالاد های آماده است، تلقیح و با روش mPCR بطور همزمان شناسایی شدند. بدین منظور مخلوطی از پرایمر های اختصاصی مربوط به باکتریها یعنی، *invA* (پروتئین تهاجمی A) برای جنس سالمونلا با ۲۸۴ جفت باز، *prfA* (پروتئین افزایش دهنده نسخه برداری از ژنهای عامل ویروالانس) برای لیستریا منوسایتوژنز با ۲۱۷ جفت باز و *rfb* (ژن مسئول تولید آنتی ژن O157) برای اشرشیا کلی O157:H7 با ۴۲۰ جفت باز، به همراه DNA استخراج شده از مخلوط سه باکتری تلقیح شده به کاهو و سایر معرف های واکنش PCR به یک لوله واکنش، منتقل و همزمان PCR شدند. با این روش، امکان تشخیص همزمان سه باکتری بیماریزای فوق با حساسیت ۱cfu/g امکان پذیر شد.

واژه های کلیدی: باکتریهای بیماریزای غذازاد؛ سبزیجات آماده مصرف؛ Multiplex PCR؛ PCR

### مقدمه

که ۳/۳ تا ۱۲ میلیون مورد بیماری‌ها، ناشی از غذا بوده که در اثر ۷ باکتری بیماری‌زای مهم حادث شده و هزینه سالیانه بین ۵/۶ تا ۳۵ میلیون دلار در برداشته است. به عنوان مثال در سال ۲۰۱۰ میلادی، ۹۹۰۲۰ مورد<sup>۲</sup> سالمونلوزیس انسانی در اروپا گزارش شده است (kagkli et al., 2011). در سال ۲۰۱۲، ۴۰۰۰ عفونت گزارش شده ناشی از اشرشیا کلی<sup>۴</sup>، مربوط به سروتایپ O157:H7 بوده است (EFSA, 2012) و در همین سال، عفونت شایعی نیز توسط لیستریا<sup>۵</sup> منوسایتوژنز گزارش شده است که سبب ۱۴۶ مورد بیماری و ۲۹ مورد مرگ شده است (CDC 2011, 2012a, b).

سالمونلا یکی از مهم ترین باکتری‌های بیماری‌زای مواد غذایی در سطح جهان است که باعث بیماری سالمونلوزیس در انسان و

آلودگی‌های باکتریایی مواد غذایی، یکی از مهم ترین مسایل در حوزه سلامت عمومی است. علیرغم افزایش ایمنی در حوزه مواد غذایی، مسمومیت ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده، پیوسته افزایش می‌یابد (Beuchat, 1996, Kim et al., 2006). در بیشتر کشورها که دارای سیستم گزارش دهنده و مستندسازی این دسته از بیماری‌ها هستند، در طی چند دهه اخیر افزایش قابل توجهی از بیماری‌های مذکور دیده شده است. بطوری که در ایالات متحده آمریکا، پس از بیماری‌های تنفسی و ریوی، مسمومیت ناشی از مصرف مواد غذایی در درجه دوم اهمیت قرار دارد (WHO, 2007). در مطالعات صورت گرفته در ایالات متحده آمریکا، مشخص شده است

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی.

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: mbahreini@um.ac.ir)

(\*) - نویسنده مسئول

DOI: 10.22067/ijst.v13i0.47729

3 Salmonellosis

4 E.coli O157:H7

5 Listeria monocytogenes

6 Centers for Disease Control

می‌شود، که مقرون به صرفه نمی‌باشد (Jaykus, 2003). طی سال‌های اخیر روش‌های مبتنی بر اسید نوکلئیک در زمینه میکروبیولوژی مواد غذایی گسترش زیادی یافته است چرا که نسبت به روش‌های مبتنی بر کشت مزایای بیشتری از جمله دستیابی به نتیجه در زمان کوتاه‌تر، حساسیت و اختصاصیت بالا دارد (Jasson et al., 2010; AOAC International 2012). امروزه PCR<sup>۱</sup> به عنوان یک روش مناسب و موفق، جهت تشخیص باکتری‌های بیماری‌زا مطرح است (Fagerlund et al., 2004; Bertrand and Roige, 1992; Rahn et al., 2007; Rawool et al., 2007) و در همین راستا، اخیراً استانداردهای بین‌المللی در جهت استفاده از تکنیک PCR برای تشخیص باکتری‌های بیماری‌زای غذا زاد تدوین شده است. (ISO/TS 20836:2005, ISO/TS 20837:2006, ISO/TS 20838:2006).

لازم به ذکر است که همین روش، در صورتی که برای نمونه‌های متعدد بصورت جداگانه بکار برده شود، بسیار وقت‌گیر خواهد بود. لذا از تکنیک multiplex PCR (mPCR) استفاده می‌شود (Liu et al., 2013, Wang et al., 2011, Ryu et al., 2012). mPCR قادر است مخلوطی از ژنوم باکتریایی مختلف را در همان مدت زمانی که برای PCR صرف می‌شود، تکثیر نماید. که این امر از نظر مصرف مواد و صرف زمان مقرون به صرفه است. از این روش، جهت تشخیص و شناسایی انواع باکتری‌های بیماری‌زای مواد غذایی استفاده شده است و محققین زیادی توانسته‌اند با کمک این تکنیک چندین نمونه باکتری بیماری‌زای مختلف را هم زمان در ماده غذایی شناسایی کنند. به عنوان مثال Lee و همکارانش (۲۰۱۴) توانستند با این تکنیک بطور همزمان باکتری‌های اشرشیا کلی O157:H7، باسیلوس سرئوس<sup>۲</sup>، ویبریو پارا همولیتیکوس<sup>۳</sup>، گونه‌های سالمونلا، لیستریا منوسایتوزن<sup>۴</sup> و استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۵</sup> را در کاهوی آلوده شده، تشخیص دهند. Guan و همکارانش (۲۰۱۳)، تکنیک mPCR را جهت تشخیص همزمان ۵ باکتری بیماری‌زای مواد غذایی شامل استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا منوسایتوزن، اشرشیا کلی O157:H7، گونه‌های جنس سالمونلا و یرسنیا انتروکولیتیکا<sup>۶</sup> در گوشت خوک که بطور مصنوعی آلوده شده بود، بکار بردند. در سال Kim و همکارانش (۲۰۰۵)، متد ترکیبی mPCR و RAPD<sup>۷</sup> را جهت تشخیص مولکولی سرووارهای مختلف اشرشیا کلی O157:H7، در نمونه‌های مدفوع و

حیوان می‌شود مهم ترین سرووارهای این جنس، سالمونلا انتریکا سرووار تیفی موریوم و سالمونلا انتریکا سرووار انتریتیدیس<sup>۸</sup> است (Herikstad et al., 2002). گونه‌های سالمونلا عموماً سبب عفونت‌های روده‌ای می‌شوند که با تب، دردهای شکمی و اسهال همراه است. تب تیفوئید، بدون عارضه اسهال، تنها از طریق تماس مستقیم انسانی یا مصرف غذاهای آلوده با منشا دامی ایجاد می‌شود. لیستریا منوسایتوزن نیز به عنوان یک بیماری‌زای انسانی و حیوانی شناخته شده است که عامل چندین عفونت است و تحت عنوان لیستریوز شناخته می‌شود. بطور کلی این باکتری قادر است به سیستم اعصاب مرکزی حمله کند و سبب مننژو انسفالیت<sup>۹</sup> و آبسه مغزی شود (Join-Lambert et al., 2005). مصرف مواد غذایی آلوده مانند سبزیجات، شیر و محصولات گوشتی و توجه به این نکته که این باکتری حتی در دماهای پایین زنده است و توان تکثیر دارد، می‌تواند منبع مهمی در بروز عفونت‌های تک‌گیر و یا همه‌گیر باشد.

اشرشیا کلی O157:H7 یکی دیگر از باکتری‌های بیماری‌زای مهم انسانی است که سبب بروز کولیتهموراژیک<sup>۴</sup>، سندرم اورمی همولیتیک و ترومبوسیتوپاتی کپورپورا می‌شود (Armstrong et al., 1996). ایجاد مسمومیت توسط این باکتری، با مصرف غذای آلوده، از همه جای دنیا گزارش شده است. شدت این بیماری و میزان کم باکتری برای ایجاد عفونت (کمتر از ده عدد باکتری) سبب شده است که این باکتری به عنوان یکی از عوامل بیماری‌زای مهم غذایی مطرح باشد. دام‌ها بزرگترین مخزن این باکتری هستند و گوشت و شیر دام‌های آلوده مهمترین منبع آلودگی انسانی هستند (Karmali, 1989).

تشخیص و شناسایی باکتری‌های بیماری‌زا به منظور حفظ سلامت و ایمنی غذا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. روش‌های مبتنی بر کشت و شمارش میکروارگانیسم‌ها، یکی از متداول‌ترین روش‌ها بوده و تحت عنوان روش‌های کلاسیک مرسوم است. اساس این روش‌ها، کشت باکتری در محیط کشت‌های مختلف و دستیابی به کلنی‌های قابل رویت، در یک محیط جامد انتخابی و در ادامه انجام آزمایشات بیوشیمیایی جهت تشخیص نهایی باکتری است (Jasson et al., 2010). بطوری که جهت رسیدن به جواب منفی ۲ تا ۳ روز و جهت بدست آوردن جواب مثبت تأیید شده، ۷ تا ۱۰ روز کاری، زمان لازم است. علاوه بر این، حجم زیادی محیط کشت و معرف استفاده

8 *Bacillus cereus*9 *Vibrio parahaemolyticus*.10 *Staphylococcus aureus*11 *Yersinia enterocolitica*

10 Random Amplified Polymorphic DNA

1 *Salmonella enterica* serovar typhimurium2 *Salmonella enterica* serovar enteritidis

3 Meningoencephalitis

4 Hemorrhagic colitis

5 Hemolytic-uremic syndrome

6 Thrombocytopenic purpura

7 Polymerase chain reaction

گوشت خوک، گاو و جوجه بکار بردند.

در تحقیق حاضر با توجه به اهمیت موضوع و بهینه‌سازی روش، کاهو به‌عنوان یک سبزی آماده مصرف انتخاب و با مخلوطی از سه باکتری *سالمونلا* تیفی موریوم، لیستریا منوسایتوژنز و اشرشیا کلی *O157:H7* در غلظت‌های مختلف بطور مصنوعی، آلوده گردید و سپس جهت تشخیص سریع و همزمان آن‌ها از تکنیک mPCR استفاده شد.

## مواد و روش‌ها

### سویه‌های باکتریایی و شرایط کشت

گونه‌های باکتریایی استفاده شده در این تحقیق عبارت بودند از: *سالمونلا انتریکا* سرووار تیفی موریوم PTCC1709<sup>۱</sup> و لیستریا منوسایتوژنز PTCC 1298 خریداری شده از مرکز کلکسیون میکروبی ایران و اشرشیا کلی *O157:H7* NCTC 12900<sup>۲</sup>، خریداری شده از مرکز کلکسیون بین‌المللی. از سه سویه باکتریایی ذکر شده در محیط تریپتیکاز سوی براث<sup>۳</sup> (TSB, CM 129 B, Oxoid, UK) و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت شبانه تهیه شد. بعد از گذشت ۱۸-۲۴ ساعت و مشاهده رشد کافی، با خواندن جذب آنها در طول موج ۶۰۰ نانومتر و مقایسه با غلظت ۰/۵ مک فارلند و همچنین شمارش کلنی، تعداد باکتری‌ها محاسبه گردید. سپس توسط سرم فیزیولوژی استریل رقت‌های سریال  $10^6$  cfu/ml تا  $10^1$  تهیه گردید (Bhagwat et al.2004, Germini et al.,2009).

### استخراج DNA

در این تحقیق سه روش استخراج DNA مورد استفاده و بررسی قرار گرفت. ابتدا کشت شبانه حاصل از هر کدام از سویه‌های باکتریایی در دور ۱۰۰۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد. فاز مایع دور ریخته و توده سلولی دو بار با سرم فیزیولوژی استریل شستشو داده شد و در نهایت در ۲۰۰µl سرم فیزیولوژی حل شد.

در روش جوشاندن ابتدا سوسپانسیون میکربی ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش و سپس ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰-°C نگه داشته شد و به مدت ۳ دقیقه در دور ۱۴۰۰۰g سانتریفوژ شد، فاز مایع که حاوی DNA بود به ویال استریل منتقل و در فریزر ۲۰-°C نگهداری شد (Kawasaki et al., 2005).

روش دیگر استفاده از کیت استخراج DNA بیونیر (شرکت بیونیر،

کره) بود که مطابق دستورالعمل کیت انجام شد. استفاده از پروتئیناز K و ایزو پروپانل، به همراه ۱۰ دقیقه گرمادهی در حمام آب ۶۰ درجه سانتی‌گراد و استخراج DNA با کمک ستونهای فیلتردار و بافر مخصوص، از ویژگی‌های این کیت است.

در روش سوم، از کیت استخراج DNA مخصوص باکتری‌های گرم مثبت شرکت دنا زیست<sup>۴</sup> (شرکت دنازیست، ایران) استفاده گردید و مطابق دستورالعمل کیت استخراج انجام شد. در این روش با استفاده از گلوله‌های کوچک شیشه‌ای، ابتدا دیواره سلولی باکتری‌ها تخریب و در ادامه با استفاده از آنزیم‌های پروتئیناز K<sup>۵</sup>، RNAase<sup>۶</sup>، لیزوزیم<sup>۷</sup> و مراحل متوالی گرم خانه‌گذاری در حمام آب گرم و سرمادهی در یخ، فرایند استخراج تکمیل می‌شود. بعد از استخراج DNA توسط هر یک از روش‌ها، جهت تأیید حضور و خلوص DNA و درستی روش استخراج از دستگاه نانودراپ<sup>۸</sup> UV-vis analysis TMSPC-8 (USA) استفاده شد. این دستگاه قادر است غلظت DNA را با قرائت جذب نوری آن در طول موج ۲۶۰ نانومتر و غلظت پروتئین (که ممکن است بصورت ناخالصی همراه با DNA باشند) را با قرائت جذب نوری‌اش در ۲۸۰ نانومتر بدست آورده و با اندازه‌گیری نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۸۰، خلوص DNA را نشان دهد.

### شرایط PCR multiplex و PCR

اسامی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه و توالی آنها در جدول ۱ لیست شده است. ژن‌های انتخابی عبارت بودند از: ژن *invA* (مسئول تولید پروتئین تهاجمی)<sup>۹</sup> در جنس *سالمونلا*، ژن *rfb* (آنتی‌ژن O157) در اشرشیا کلی *O157:H7* و ژن *prfA* (فعال‌کننده نسخه برداری از ژن‌های بیماری‌زا)<sup>۱۰</sup> در لیستریا منوسایتوژنز. علاوه بر این پرایمر عمومی ژن 16S rRNA به‌عنوان کنترل داخلی، جهت تأیید حضور DNA باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت.

### شرایط PCR single

همه واکنش‌های PCR در حجم ۲۵ µl و با استفاده از کیت Genet Bio (شرکت جنت بیو، کره) انجام شد. مقادیر استفاده شده عبارت بودند از: بافر ((2/5µl×x)، MgCl<sub>2</sub> (25mM/5µl)، آنزیم *Taq* پلیمرز (۵U/µl) 0/2µl (10mM)، dNTPs 0/4µl، پرایمرهای رفت و برگشت (10 pmol) از هر کدام ۱µl، DNA استخراج شده از هر نمونه ۲µl، آب مقطر دیونیزه 15/4µl. سپس نمونه‌ها در دستگاه ترمو سیکلر (Bio-Rad T100, thermal cycler, Germany) با

6Lysozyme

7 NanoDrop

8 Invasion protein A

9 Transcriptional activator of the virulence factor

10 Antigen O157 prduicer

1 Persian Type Culture Collection

2 National Collection of Type Cultures

3 Trypticase Soy Broth

4 DENA zist extraction DNA kit

5 Proteinase K

شرایط دمایی و برنامه زمانی زیر قرار داده شدند: واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴°C، ۵ دقیقه؛ ۳۵ سیکل واسرشت‌سازی در ۹۴°C، ۳۰ ثانیه؛ اتصال آغازگرها در ۵۵°C، ۳۰ ثانیه؛ سنتز قطعه مورد نظر در ۷۲°C، ۳۰ ثانیه و گسترش نهایی در ۷۲°C، ۷ دقیقه.

جدول ۱- لیست پرایمرهای استفاده شده در واکنش PCR و mPCR

| منبع                         | طول قطعه تکثیر شده | توالی پرایمر                                                            | ژن هدف          | نام باکتری                     |
|------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------|
| Rahn <i>et al.</i> , 1992    | 284 bp             | F-GTG AAA TTA TCG CCA CGT TCG GGC AA<br>R-TCA TCG CAC CGT CAA AGG AAC C | <i>invA</i>     | <i>Salmonella thyphimurium</i> |
| Germini <i>et al.</i> , 2009 | 217 bp             | F- TCA TCG ACG GCA ACC TCG G<br>R- TGA GCA ACG TAT CCT CCA GAG T        | <i>prfA</i>     | <i>Listeria monocytogenes</i>  |
| Maurer <i>et al.</i> , 1999  | 420 bp             | F:CGTGATGATGTTGAGTTG<br>R:AGATTGGTTGGCATTACTG                           | <i>rfb</i>      | <i>E.coli O157:H7</i>          |
| Jiang, <i>et al.</i> , 2006  | 1460 bp            | 27F: AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG<br>1492R: CGG TTA CCT TGT TAC GAC TT    | <i>16s rRNA</i> | General primer                 |

نهایی ۳۰ دقیقه زیر لامپ UV قرار داده شدند (هر طرف کاهو، ۱۵ دقیقه). در انتها قطعات کاهو به ظروف کاملاً استریل منتقل و در یخچال نگهداری شدند (Bahreini *et al.*, 2014. Bidawid *et al.*, 2000. Butot *et al.*, 2007. Dubois *et al.*, 2006. Mutsumi *et al.*, 2014).

برای اطمینان از آلوده نبودن تکه‌های کاهو و صحت شرایط استریل بکار رفته، چند تکه از کاهوها طبق روش‌های استاندارد میکروبیولوژی به مدت ۲۴ ساعت در محیط بافر پیتون واتر<sup>۱</sup> انکوبه شدند و سپس بر روی محیط‌های اختصاصی هر یک از باکتری‌ها (XLD آگار برای *سالمونلا*، آکسفورد آگار برای *لیستریا منوسایتوزنز* و سوربیتول مک کانکی آگار برای *اشرشیا کلی O157:H7*) کشت گردیدند (ISO/TS 20837:2006, ISO/TS 20836:2005).

جهت تلقیح به کاهوی استریل، ابتدا از سه سوش باکتریایی *سالمونلا انتریکا سرووار تیفی موروم*، *لیستریا منوسایتوزنز* و *اشرشیا کلی O157:H7* در محیط TSB کشت شبانه تهیه و پس از تعیین غلظت و تهیه رقت‌های سریال، از هر کدام از غلظت‌های cfu/ml  $10^6$  تا  $10^4$ ،  $100 \mu\text{l}$  به ۱ گرم کاهوی استریل تلقیح شد. سپس هر یک از قطعات کاهو در ۲۰ ml بافر پیتون واتر کشت و به مدت ۶ ساعت در ۳۷°C گرمخانه‌گذاری شدند و بعد از مخلوط کردن، ۱ ml از محلول برداشته و جهت کارهای مولکولی استفاده شد. یک نمونه بدون تلقیح نیز به عنوان کنترل منفی استفاده شد (Thapa *et al.*, 2013, Lee *et al.*, 2014, Chung *et al.*, 2010).

جهت بررسی و بهینه‌کردن شرایط PCR، ابتدا هر یک از سویه‌های باکتریایی بطور جداگانه به سطح کاهو تلقیح و شرایط PCR بهینه‌سازی شد و سپس جهت بررسی و امکان تشخیص مخلوطی از باکتری‌ها به روش mPCR مخلوطی از سه باکتری بیماری‌زای فوق

### شرایط PCR Multiplex

در این قسمت نیز حجم نهایی واکنش  $25 \mu\text{l}$  و حجم DNA مخلوط سه باکتری،  $3 \mu\text{l}$  بود. در واکنش mPCR، جفت پرایمرهای اختصاصی هر کدام از باکتری‌ها، با حجم‌های تعیین شده به همراه معرف‌های دیگر به یک ویال، منتقل و بعد از افزودن DNA مخلوط سه باکتری، حجم نهایی با آب مقطر دیونیزه به  $25 \mu\text{l}$  رسانده و به دستگاه PCR منتقل شد. مقادیر و حجم‌های مورد نیاز جهت انجام واکنش mPCR عبارت بودند از: بافر ( $10\times$ )  $2/5 \mu\text{l}$ ،  $\text{MgCl}_2$  (25mM)  $2/5 \mu\text{l}$ ، آنزیم *Taq* پلیمرز  $0/5 \mu\text{l}$  ( $5\text{U}/\mu\text{l}$ )،  $1 \mu\text{l}$  (10mM) dNTPs، پرایمرهای رفت و برگشت (10 pmo) *لیستریا منوسایتوزنز* و *اشرشیا کلی O157:H7*  $1 \mu\text{l}$  و جنس *سالمونلا*  $0/8 \mu\text{l}$ ، آب مقطر دیونیزه  $9/9 \mu\text{l}$ . واکنش mPCR به شرح زیر انجام شد: واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴°C، ۳ دقیقه؛ ۳۵ سیکل واسرشت‌سازی در ۹۴°C، ۳۰ ثانیه؛ اتصال آغازگرها در ۵۷°C، ۳۰ ثانیه؛ سنتز قطعه مورد نظر در ۷۲°C، ۹۰ ثانیه و گسترش نهایی در ۷۲°C، ۱۰ دقیقه.

### تلقیح به کاهو

کاهو از فروشگاه‌های محلی خریداری و سپس به قطعات ۱ گرمی برش و توزین شد. جهت استریل کردن کاهو، مطابق زیر عمل شد. ابتدا قطعات ۱ گرمی کاهو در محلول هیپوکلریت سدیم ۳٪ به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس چند قطره از محلول تیوسولفیت سدیم ۱ درصد به ظرف آب مقطر استریل حاوی قطعات کاهو اضافه و بعد از ۲ دقیقه قطعات کاهو از این محلول خارج شدند این کار به منظور حذف باقیمانده‌های کلر از کاهو بود. در ادامه قطعات کاهو سه بار با آب مقطر استریل شسته شده و جهت خشک شدن آب اضافی به زیر هود لامینار با شرایط استریل منتقل شدند. در نهایت به منظور استریل

باکتری سالمونلا انتریکا سرووار تیفی موریوم و اشرشیا کلی O157:H7 قبل و بعد از تلقیح به کاهو بود، ولی توانایی استخراج DNA لیستریا منوسایتوژنز، که یک باکتری گرم مثبت با دیواره سلولی محکم است، را نداشت. در نهایت از کیت دنایست استفاده شد. آنزیم لیزوزیم و مهره‌های کوچک شیشه‌ای موجود در این کیت به خوبی توانست دیواره سلولی لیستریا منوسایتوژنز را در هم شکسته و سایر ترکیبات ممانعت‌کننده PCR مانند ترکیبات پروتئینی و باقی مانده‌های RNA، توسط آنزیم‌های پروتئیناز K و RNAase را کاملاً حذف کند و توانست DNA هر سه باکتری فوق را قبل و بعد از تلقیح به کاهو استخراج کند. بر اساس این نتایج، روش موجود در کیت دنا زیست به‌عنوان بهترین روش استخراج DNA باکتری‌های بیماری‌زای بکار رفته در ادامه تحقیق، استفاده شد.

مرحله بعدی بهینه‌سازی روش mPCR با استفاده از پرایمرهای مناسب بود. برای این کار ابتدا پرایمرها از متون تخصصی و مقالات نوشته شده در این رابطه انتخاب و پس از بررسی با NCBI/BLAST و اطمینان از داشتن حساسیت و اختصاصیت بالا و عدم داشتن واکنش متقاطع با سایر باکتری‌های هم جنس و غیره، مورد استفاده قرار گرفتند. ژن‌های انتخاب شده جهت طراحی پرایمرها عبارت بودند از: ژن *invA* برای گونه‌های سالمونلا، این ژن مسئول تولید پروتئین تهاجمی در تمامی گونه‌های سالمونلا بوده و مهم‌ترین عامل ویروالانس این باکتری محسوب می‌شود. *Rfb* برای اشرشیا کلی O157:H7 این ژن کدکننده لیپوپلی‌ساکارید (LPS O157) بوده و اختصاصی سرووار اشرشیا کلی O157:H7 است و به‌عنوان یک مارکر خوب و مناسب برای این باکتری بوده و در تمامی مراحل رشد باکتری بیان می‌شود. علاوه بر این *mRNA rfb* فقط در سلول‌های زنده تولید شده و حضور دارد و بعد از مرگ سلول به سرعت تجزیه می‌شود.

ژن *prfA* فعال‌کننده نسخه‌برداری از ژن‌های ویروالانس لیستریا منوسایتوژنز است و مارکر خوبی جهت تشخیص این گونه می‌باشد. علاوه بر این پرایمر عمومی rRNA 16S به‌عنوان کنترل داخلی، جهت تایید حضور DNA باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت. سپس جهت ارزیابی اختصاصیت پرایمرها، هر جفت از پرایمرهای طراحی شده برای هر باکتری بطور عملی بررسی و ارزیابی شدند (Park et al. 2006). بدین صورت که واکنش PCR برای هر کدام از باکتری‌ها بطور جداگانه با پرایمر اختصاصی باکتری دیگر، گذاشته شد و نتایج نشان داد که پرایمر هر باکتری اختصاصی همان باکتری است و با دو باکتری دیگر واکنش نمی‌دهد (نتایج نشان داده نشده است).

حساسیت PCR نیز با رقت‌سازی سریال از سوسپانسیون میکروبی و تهیه غلظت‌های cfu/ml ۱۰<sup>۶</sup> تا ۱۰ و در ادامه با گذاشتن PCRsingle از هر کدام از این غلظت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت (Lee et al. 2014). در نهایت از داده‌های بدست آمده توسط PCR،

به کاهو تلقیح شد و طبق روش ذکر شده در بالا استخراج DNA از نمونه‌ها صورت گرفت.

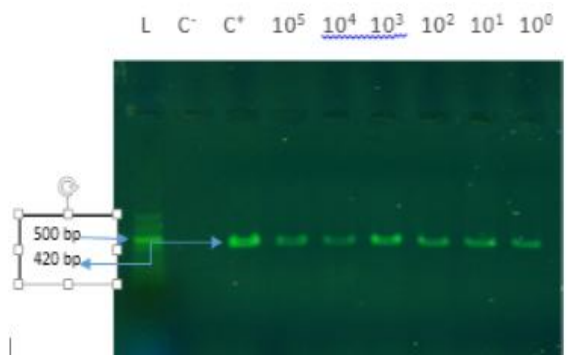
## نتایج و بحث

در سالهای اخیر مصرف سبزیجات تازه و آماده مصرف در بین عامه مردم رشد زیادی یافته است و این امر باعث افزایش شیوع بیماری‌های عفونی غذازاد شده است. استفاده از آب‌های سطحی آلوده عامل اصلی آلودگی سبزیجات با باکتری‌های بیماری‌زای غذازاد می‌باشد (بحرینی و همکاران، ۱۳۹۰، Toze, 2006). از این‌رو استفاده از سبزیجات تازه و آماده مصرف که اغلب بصورت خام و یا با حداقل فرایند آماده و مصرف می‌شوند، بعنوان یک خطر بزرگ برای سلامت عمومی محسوب می‌شوند و به همین خاطر تشخیص سریع، به موقع و دقیق باکتری‌های بیماری‌زا دارای اهمیت خاصی است و یافتن روش‌های تشخیصی سریع و دقیق نیاز است.

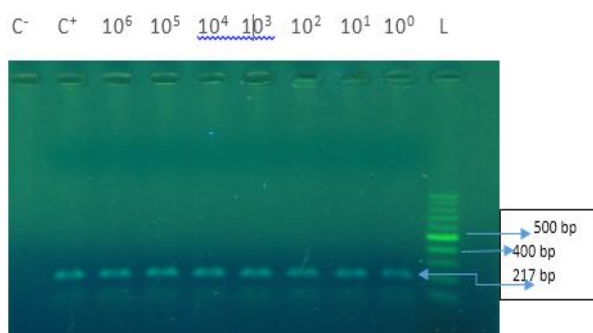
امروزه روش‌های مبتنی بر اسید نوکلئیک (PCR, mPCR) نسبت به روش‌های مبتنی بر کشت به خاطر مزایای زیادی که دارد (صرفه جویی در زمان، کاهش مصرف مواد، حساسیت و اختصاصیت بالا)، در زمینه میکروبیولوژی مواد غذایی گسترش زیادی یافته است (Jasson et al. 2010; AOAC International, 2012).

در این تحقیق برای دستیابی به یک روش دقیق و حساس که بطور هم‌زمان بتواند چندین عامل بیماری‌زا را تشخیص و زمان و مصرف مواد را کاهش دهد از روش mPCR استفاده گردید. برای این منظور ابتدا سعی شد استخراج DNA که یک مرحله اساسی و مهم در این روش می‌باشد بهینه‌سازی گردد.

ابتدا طبق روش Kawasaki و همکاران از روش جوشاندن برای استخراج DNA استفاده شد. این روش برای هر سه باکتری خالص سالمونلا انتریکا سرووار تیفی موریوم، اشرشیا کلی O157:H7 و لیستریا منوسایتوژنز قبل از تلقیح به کاهو و در تمامی غلظت‌های آن‌ها از ۱۰<sup>۶</sup> تا ۱۰<sup>۰</sup>cfu/ml و PCR گذاشته شد و بعد از انجام الکتروفورز، باند مربوط به تکثیر ژن‌های هدف هر کدام از باکتری‌های فوق، روی ژل آگارز بررسی شد. این روش توانایی استخراج DNA برای دو باکتری سالمونلا انتریکا سرووار تیفی موریوم و اشرشیا کلی O157:H7 را قبل از تلقیح به کاهو داشت، اما نتوانست بعد از تلقیح به کاهو، DNA آن‌ها را استخراج کند. همچنین این روش کارایی لازم جهت استخراج DNA لیستریا منوسایتوژنز، قبل و بعد از تلقیح به کاهو را نداشت. کیت بیونیر روش دومی بود که استفاده شد. این کیت با توجه به استفاده از پروتئیناز K و ایزو پروپانل، به همراه ۱۰ دقیقه گرمادهی در حمام آب ۶۰ درجه سانتی‌گراد و استخراج DNA با کمک ستون‌های فیلتردار و بافر مخصوص، توانایی حذف عوامل ممانعت‌کننده PCR را دارد. این روش قادر به استخراج DNA دو

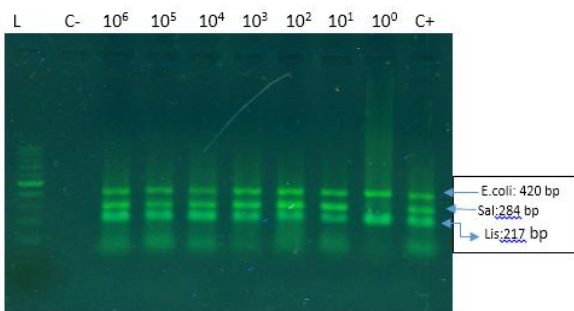


شکل ۲- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز *E. coli* o157:H7 توسط ژن *rfb*.  
C- = negative control, C+ = positive control, L = ladder 100  
قطعه تکثیر شونده: ۴۲۰ bp



شکل ۳- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز *L. monocytogenes* توسط ژن *prfA*.  
C- = negative control, C+ = positive control.  
L = ladder 100 bp. طول قطعه تکثیر شونده: 217 bp.

سپس mPCR برای سه باکتری خالص با توجه به داده‌های بدست آمده از PCR تک، طراحی و انجام شد (شکل ۴).



شکل ۴- multiplex PCR مربوط به سه سویه باکتریایی *E. coli* o157:H7 (420 bp), *L. monocytogenes* (217 bp), *Salmonella* spp. (284 bp) قبل از تلقیح به کاهو. L = ladder 100 bp, C- = negative control, C+ = positive control

دمای اتصال پرایمرها<sup>۱</sup> در واکنش PCRsingle، برای هر کدام از

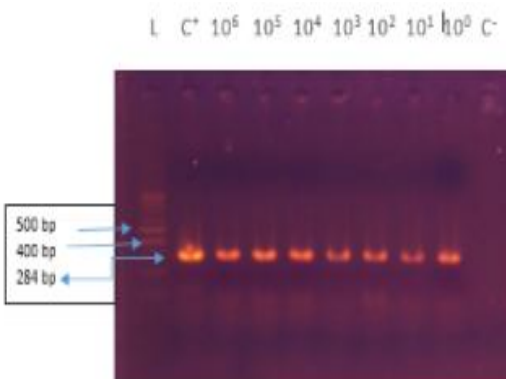
جهت طراحی یک mPCR کارا، استفاده گردید.

جهت بهینه‌سازی PCR از غلظت‌های ۱۰<sup>۰</sup>-۱۰<sup>۶</sup> cfu/ml متعلق به سه سویه باکتریایی، بطور جداگانه قبل از تلقیح به کاهو، PCR گذاشته شد. نتایج حاصله نشان داد که حساسیت این روش تا میزان ۱ cfu/ml برای هر کدام از باکتری‌ها می‌باشد (شکل‌های ۱ تا ۳).

در روش mPCR طراحی و انتخاب پرایمر بسیار مهم و حائز اهمیت است (Guan et al., 2013) و رعایت دو نکته اصلی ضروری می‌باشد.

اول اینکه نقطه ذوب (T<sub>m</sub>) پرایمرها، شبیه یا نزدیک بهم باشد و دیگر اینکه طول قطعات ژنی تکثیر شونده مربوط به هر یک از ژن‌ها نزدیک بهم بوده و اختلاف زیادی نداشته باشند (Chen et al. 2012) و در عین حال به اندازه کافی اختلاف وجود داشته باشد که بتوان براحتی قطعات ژنی را از هم تشخیص داد. در صورت عدم رعایت هر کدام از این دو اصل، نتیجه مطلوب حاصل نمی‌شود (Mukhopadhyay, 2008).

جهت بهینه‌سازی یک برنامه PCR مشترک برای هر سه باکتری همانطور که در بالا ذکر شد ابتدا PCRsingle برای هر یک از آن‌ها گذاشته شد و بعد با استفاده از داده‌های بدست آمده و با اندک تغییرات جزئی، mPCR با مخلوطی از DNAهای استخراج شده سه باکتری مورد آزمایش به همراه وارد کردن جفت پرایمرهای هر باکتری در یک لوله انجام شد. نتایج نشان داد که سه جفت پرایمر در واکنش mPCR بطور جداگانه عمل کرده و تشخیص با اختصاصیت بالایی انجام شد (نتایج نشان داده نشده است).



شکل ۱- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز *Salmonella* spp. توسط ژن *invA*.  
C- = negative control, C+ = positive control, L = ladder 100 bp.  
طول قطعه تکثیر شونده: ۲۸۴ bp

1 Annealing

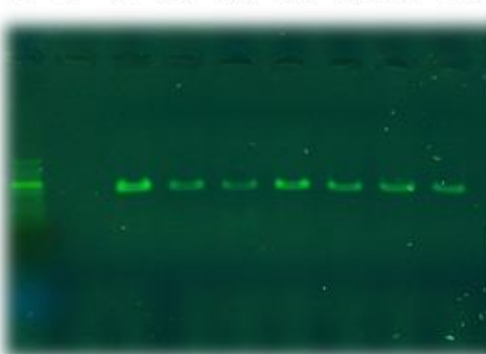
کشت خالص، حاصل شده بود. نتایج نشان داد که حساسیت PCR به میزان تشخیص ۱ cfu/ml برای هر کدام از باکتری‌ها می‌باشد.

L C<sup>-</sup> C<sup>+</sup> 10<sup>6</sup> 10<sup>5</sup> 10<sup>4</sup> 10<sup>3</sup> 10<sup>2</sup> 10<sup>1</sup> <10



شکل ۶- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز رقت‌های سریال *Salmonella* spp. با ژن *invA*. پس از تلقیح به کاهو. L=ladder 100bp. طول قطعه تکثیر شونده: 284bp  
C= negative control, C+= positive control

L C<sup>-</sup> C<sup>+</sup> 10<sup>5</sup> 10<sup>4</sup> 10<sup>3</sup> 10<sup>2</sup> 10<sup>1</sup> 10<sup>0</sup>



شکل ۷- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز رقت‌های سریال *E. coli* O157:H7 با ژن *rfb*. پس از تلقیح به کاهو. C= negative. L=ladder 100bp. control, C+= positive control  
تکثیر شونده: 420bp

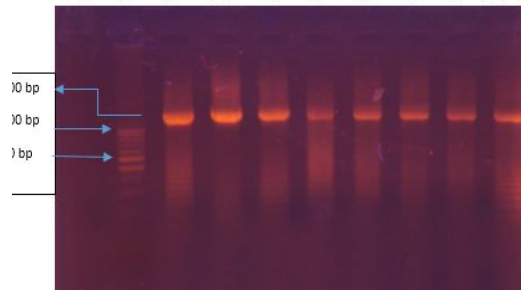
شکل ۹ نتایج حاصل از الکتروفورز واکنش mPCR از مخلوط سه باکتری تلقیح شده به سطح کاهو، با غلظت‌های سریالی ۱۰<sup>۶</sup> cfu/g تا ۱۰<sup>۰</sup> را نشان می‌دهد که در حقیقت هدف اصلی این تحقیق تشخیص همزمان باکتری‌های سه‌گانه فوق در نمونه غذایی، به روش mPCR با تکثیر ژن‌های هدف و اختصاصی هر کدام از باکتری‌های جدا شده از نمونه غذایی می‌باشد. در واکنش mPCR نیز مخلوطی از DNA سه باکتری بیماری‌زا با غلظت‌های ۱۰<sup>۶</sup> تا ۱۰<sup>۰</sup> گذاشته شد. نتایج حاصله نشان داد که با این روش می‌توان از نمونه ماده غذایی، مخلوط سه باکتری را تا میزان ۱ cfu/ml تشخیص و شناسایی کرد، که در مقایسه با تحقیقات سایرین نتیجه بسیار مطلوبی است.

باکتری‌های بیماری‌زا ۵۵°C و در واکنش mPCR این دما ۵۷°C بود. البته واکنش mPCR در دمای ۵۵°C نیز انجام پذیر بود ولی باندها وضوح کمتری داشتند، لذا جهت بهتر کردن وضوح باندها، دماهای پایین‌تر و بالاتر از ۵۵°C آزمایش شد که در نهایت دمای ۵۷°C با داشتن بالاترین وضوح انتخاب شد.

برای مخلوط سه باکتری نیز با غلظت‌های ۱۰<sup>۶</sup>-۱۰<sup>۰</sup> cfu/ml و ۱۰<sup>۴</sup>-۱۰<sup>۰</sup> و ۱۰<sup>۳</sup>-۱۰<sup>۰</sup> mPCR گذاشته شد. نتایج نشان داد که این روش قادر است مخلوط سه باکتری را به میزان 1 cfu/ml شناسایی کند (شکل ۴)

کنترل منفی و مثبت به ترتیب شامل نمونه فاقد DNA و نمونه حاوی DNA سویه استاندارد مورد نظر، برای کلیه تست‌ها به همراه سایر معرف‌های لازم جهت واکنش PCR، گذاشته شد.

C<sup>-</sup> L C<sup>+</sup> 10<sup>6</sup> 10<sup>5</sup> 10<sup>4</sup> 10<sup>3</sup> 10<sup>2</sup> 10<sup>1</sup> <10 cfu/ml



شکل ۳- PCR ژن rRNA ۱۶ سویه اشرشیا کلی O157:H7 پس از تلقیح به کاهو با رقت‌های سریال L=ladder 100 bp  
C= negative control, C+= positive control

بعد از بهینه‌سازی روش‌های PCR و mPCR با نمونه‌های خالص باکتریایی، رقت‌های مختلفی از سه باکتری فوق به کاهو تلقیح شد. در اینجا علاوه بر کنترل مثبت (سویه استاندارد)، نمونه‌ای از کاهوی بدون تلقیح، به عنوان کنترل منفی نیز در نظر گرفته شد. بعد از استخراج DNA، جهت اطمینان از حضور باکتری‌ها در نمونه‌های تلقیح شده، از پرایمر عمومی ژن 16s rRNA به منظور کنترل داخلی (Germini et al., 2009) استفاده و نمونه‌ها PCR شدند. در اینجا فقط عکس مربوط به سویه اشرشیا کلی O157:H7 آورده شده و همانطور که در شکل ۵ نشان داده شده است تمام رقت‌های تلقیح شده از باکتری، دارای باند می‌باشند

جهت بررسی میزان حساسیت PCR در ماده غذایی، ابتدا PCR تک برای هر کدام از باکتری‌ها از غلظت ۱۰<sup>۶</sup> cfu/g تا ۱۰<sup>۰</sup> آنها گذاشته شد. شکل‌های ۳-۶ تا ۳-۸ نمونه‌های الکتروفورز شده متعلق به انجام PCR هر یک از سویه‌های باکتریایی بعد از تلقیح به کاهو را نشان می‌دهند. هدف از گذاشتن PCR تک، برای نمونه‌های جدا شده از سطح ماده غذایی، اطمینان از کاربرد و عملکرد مناسب PCR با همان حساسیت و اختصاصیتی است که با آزمایش بر روی نمونه‌های



- Alarcon, B., Garcia-Canas, V., Cifuentes, A., Gonzalez, R. and Aznar R., 2004, Simultaneous and sensitive detection of three-foodborne pathogen by multiplex PCR, capillary gel electrophoresis, and laser-induced fluorescence. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 7180-7186.
- AOAC (Association of Official Agricultural Chemists) 2012. INTERNATIONAL Methods Committee Guidelines for Validation of Microbiological Methods for Food and Environmental Surfaces
- Armstrong, G.L., Hollingsworth, J. and Morris, J.G., 1996, Emerging foodborne pathogens: Escherichia coli O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world, *Epidemiology Review*, 18, 29-51.
- Bahreini, M., Habibi Najafi, M. B., Bassami, M. R. Yavarmanesh, M., 2014, Optimization of extraction and concentration methods of enteric viruses from the surface of ready to eat vegetables using MS2 coliphage as a model. *Journal of food science and technology*, 11(43), 1-10.
- Bertrand, R. and Roig, B., 2007, Evaluation of enrichment-free PCR-based detection on the rfbE gene of Escherichia coli O157—application to municipal wastewater, *Water Research*, 41, 1280-1286.
- Beuchat, L.R., 1996, Pathogenic microorganisms associated with fresh produce, *Journal of Food Protection*, 59, 204-216.
- Bhagwat, A.A., 2004, Rapid detection of Salmonella from vegetable rinse-water using real-time PCR, *Journal of Food Microbiology*, 21, 73-78.
- Bidawid, S., Farber, J.M. and Sattar, S.A., 2000, Rapid concentration and detection of hepatitis A virus from lettuce and strawberries, *Journal of Virological Methods*, 88, 175-185.
- Butot, S., Putallaz, T. and Sanchez, G., 2007, Procedure for rapid concentration and detection of enteric viruses from berries and vegetables, *Applied and Environmental Microbiology*, 73(1): 186-192.
- CDC (Center for Disease Control), 2011, Investigation Update: Multistate Outbreak of E. coli O157:H7 Infections Associated with In-shell Hazelnuts [Online]. Available at <http://www.cdc.gov/ecoli/hazelnuts0157/>.
- CDC (Center for Disease Control), 2012a, Cholera and Other Vibrio Illness Surveillance System [Online]. Available at [http://www.cdc.gov/national-surveillance/cholera\\_vibrio\\_surveillance.html](http://www.cdc.gov/national-surveillance/cholera_vibrio_surveillance.html).
- CDC (Center for Disease Control), 2012b, Multistate Outbreak of Human Salmonella Montevideo Infections Linked to Live Poultry [Online]. Available at <http://www.cdc.gov/salmonella/montevideo-06-12>
- Chen, J., Tang, J., Liu, J., Cai, Z. and Bai, X., 2012, Development and evaluation of a multiplex PCR for simultaneous detection of five foodborne pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 112, 823-830.
- Chung, MS., Kim, CM, Ha, SD., 2010. Detection and enumeration of microorganisms in ready-to-eat foods, ready-to-cook foods and fresh-cut produce in Korea. *Journal of Food Safety*; 30:480-489.
- Dubois, E., Hennechart, C., Deboosere, N., Merle, G., Legeay, O., Burger C., et al., 2006, Intra-laboratory validation of a concentration method adapted for the enumeration of infectious F-specific RNA coliphage, enterovirus and hepatitis A virus from inoculated leaves of salad vegetables, *International Journal of Food Microbiology*, 108: 164-171.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2012. The European Union Summary Report. Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. European Food Safety Authority (442)
- Fagerlund, A., Ween, A., Lund, T., Hardy, S.P. and Granum, P.E., 2004, Genetic and functional analysis of the cytK family of genes in Bacillus cereus, *Microbiology*, 150, 2689-2697.
- Germini, A., Masola, A., Carnevali, P. and Marhelli, R., 2009, Simultaneous detection of Escherichia coli O157:H7, Salmonella spp. and Listeria monocytogenes by multiplex PCR, *Food Control*, 20(8), 733-738.
- Guan ZP, Jiang Y, Gao F, Zhang L, Zhou GH. And Guan ZJ, 2013. Rapid and simultaneous analysis of five foodborne pathogenic bacteria using multiplex PCR, *European Food Research and Technology*, 237: 627-637.
- Herikstad, H., Motarjemi, Y. and Tauxe, R.V., 2002. Salmonella surveillance: a Global survey of public health serotyping. *Epidemiology Infection*, 129, 1-8.
- ISO 11290-2:1998, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes– Part 2: Enumeration method.
- ISO 16654:2002, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Escherichia coli O157:H7.
- ISO 6579:2002, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Salmonella spp.
- Jasson, V., Jacxsens, L., Luning, P., Rajkovic, A. and Uyttendaele, M., 2010, Alternative microbial methods: An overview and selection criteria, *Food Microbiology*, 27, 710-730.
- Jaykus, L.A., 2003, Challenges to developing real-time methods to detect pathogens in foods, *ASM News*, 69, 341-347.
- Jiang, H., Dong, H., Zhang, G., Yu, B., Chapman, L. R. and Fields, M. W., 2006, Microbial Diversity in Water and Sediment of Lake Chaka, an Athalassohaline Lake in North western China. *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (6): 3832-3845.
- Join-Lambert, O.F., Ezine, S., Le Monnier, A., Jaubert, F., Okabe, M., Berche, P. and Kayal, S., 2005, Listeria monocytogenes-infected bone marrow myeloid cells promote bacterial invasion of the central nervous system, *Cell Microbiology*, 7, 167-180.
- Kagkli, D.M., Weber, T.P., Van den Bulcke, M., Folloni, S., Tozzoli, R., Morabito, S., Ermolli, M., Gribaldo, L. and Van den Eede, G., 2011, Application of the modular approach to an in-house validation study of real-time PCR methods

- for the detection and serogroup determination of verocytotoxin-producing *Escherichia coli*, *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 6954–6963.
- Karmali, M.A., 1989, Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Review*, 2, 15–38.
- Kawasaki, S., Horikoshi, N., Okada, Y., Takeshita, K., Sameshima, T. and Kawamoto, S., 2005, Multiplex PCR for simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in meat samples, *Journal of Food Protection*, 68, 551–556.
- Kim J., Demeke, T., Clear, R.M. and Patrick, S.K., 2006, Simultaneous detection by PCR of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in artificially inoculated wheat grain. *International Journal of Food Microbiology*, 111(1), 21–25.
- Kim J, Kim SH, Kwon NH, Bae WK, Lim JY, Koo HC, Kim JM, Noh KM, Jung WK, Park KT, Park YH. 2005, Isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 using different detection methods and molecular determination by multiplex PCR and RAPD. *Journal of veterinary science*, 6(1):7–19.
- Lee, N., Kwon, K.Y., Oh, S.K., Chang, H.J., Chun, S.H. and Choi, S.W., 2014, A multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* in Korean ready-to-eat food, *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(7), 27, 2014
- Liu, B., Zhou, X., Zhang, L., Liu, W., Dan, X., Shi, C., et al., 2012, Development of a novel multiplex PCR assay for the identification of *Salmonella enterica typhimurium* and *Enteritidis*... *Food Control*, 27, 87–93.
- Maurer, F., Tierney, And Robert L. 1999. An AU-rich sequence in the 3'-UTR of plasminogen activator inhibitor type 2 (PAI-2) mRNA promotes PAI-2 mRNA decay and provides a binding site for nuclear HuR. *Nucleic Acids Research*, 1999, Vol. 27, No. 7
- Mukhopadhyay, A., Utpal, K. and Mukhopadhyay, N., 2008, Multiplex PCR approaches for the simultaneous detection of human pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Microbiological Methods*, 68, 193–200.
- Mutsumi, A., Xin, L., Takaaki, S.h., Takashi, U., Kazuaki, M., Yumi, H., Masatake, A., 2014. Vegetable Surface Sterilization System Using UVA Light-Emitting Diodes. *The Journal of Medical Investigation* Vol. 61, 285–290
- Park, Y.S., Lee, S.R., and Kim, Y.G., 2006, Detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Kimchi by multiplex polymerase chain reaction (mPCR). *The Journal of Microbiology*, 44(1): 92–97.
- Rahn, K., S. A. De Grandis, R. C. Clarke, S. A. McEwen, J. E. Galán, C. Ginocchio, R. Curtiss, III, and C. L. Gyles. 1992. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*, *Molecular Cell Probes*, 6, 271–279.
- Rawool DB., Malik S.V.S., Shakuntala I., Sahare A.M. and Barbuddhe S.B., 2007, Detection of multiple virulence associated genes in *Listeria monocytogenes* isolated from bovine mastitis cases. *Journal of Food Microbiology*, 113, 201–207.
- Ryu, J., Park, S.H., Yeom, Y.S., Shrivastav, A., Lee, S.H., Kim, Y.R., et al., 2013, Simultaneous detection of *Listeria* species isolated from meat processed foods using multiplex PCR, *Food Control*, 32(2), 659–664.
- Thapa, S.P., Han, R., Cho, J.M. and Hur, J.H., 2013, Multiplex PCR and DNA array for the detection of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella* spp. Targeting virulence-related genes. *Annals of Microbiology*, 63(2): 725–731.
- Toze, S., 2006. Reuse of effluent water - benefits and risks. *Agriculture Water Management*, 80, 147–159.
- Wang, H., Zhang, C. and Xing, D., 2011, Simultaneous detection of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* using oscillatory flow multiplex PCR, *Microchimica Acta*, 173, 503–512.



## Simultaneous detection of foodborn pathogens *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. By Multiplex PCR in ready-to-eat vegetables

S. Rajabzadeh<sup>1</sup>, M. Bahreini<sup>1,2</sup>, M. R. Sharifmoghadam<sup>1</sup>

Received: 2015.06.21

Accepted: 2016.02.13

**Introduction:** Foodborne pathogens are a major public health problem. Despite the increase in management and consumer interest in food safety, the number of food poisoning cases has been continuously increased in recent years. For example in 2010, human salmonellosis cases were reported in Europe and in 2011, a multistate foodborne *E. coli* O157:H7 outbreak affected 8 people and also a larger multistate *Listeria monocytogenes* outbreak caused 146 infections and 29 deaths. Traditional culture methods for detection of microorganisms in food are laborious and time consuming. Due to Economic impact of foodborne contamination and diseases, there are great efforts to develop more sensitive methods for rapid and accurate pathogen detection and identification in foodstuffs. Recently, molecular techniques such as PCR based DNA amplification have been employed that offer several advantages over the classical microbiological methods, such as shortening time of analysis, lowering detection limits, increasing specificity and having potential for automation. In this study we used multiplex PCR system, for the simultaneous detection of the three pathogens (*salmonella* spp., *L. monocytogenes* and *E. coli* O157:H7) in artificially inoculated lettuce.

**Materials and methods:** Bacterial strains used in this study, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium PTCC1709, *Listeria monocytogenes* PTCC1298 and *E. coli* O157:H7 NCTC12900, were grown in Trypticase Soy Broth at 37°C and then serial dilutions of strains from 100 to 10<sup>6</sup> cfu/ml (1 to 1000000 cfu/ml) were prepared using normal saline (0.85 g/l). Lettuce samples were cut into pieces of 5 ± 0.2 grams. To sterilize, the pieces overwhelm in 3% sodium hypochlorite solution for 15 min and in order to eliminate extra chlorine ions, the samples moved to sterile distilled water containing some drops of 1% sodium thiosulfate for 2 min. Bacterial strains were inoculated on lettuce as pure and mixed cultures separately. For the mixed cultures 100 µl of each bacterial strain inoculated on lettuce (in total 300 µl). The eluted bacteria were re-suspended in 100 µl of sterile normal saline and used for DNA extraction. DNA extraction was performed on each bacterial strain before and after inoculation to lettuce. The target genes were the *rfb* gene (antigen O157 producer) for *E. coli* O157:H7, the *invA* gene (invasion protein A) for *salmonella* spp., and the *prfA* gene (transcriptional activator of the virulence factor) for *L. monocytogenes*. The genes described here have been used as the most specific and reliable genetic targets for the above microorganisms. As an internal control gene, the 16S rRNA gene was targeted in the presence of bacterial DNA.

Monoplex PCR reactions were performed in a final volume of 25 µl. Master mix composition was as follows: PCR buffer 10X, 2.5 µl; MgCl<sub>2</sub> 25mM, 2.5 µl; Taq DNA Polymerase 5 U/µl, 0.2 µl; dNTPs 10 mM, 0.4 µl; F/R primers 10 pmol, 1 µl; extracted DNA as template, 2 µl and distilled water, 15.4 µl. Thermal cycler conditions were as follows: predenaturation at 94°C for 5min; 35 cycles consisting of denaturation at 94°C for 30s, annealing at 55°C for 30s and extension at 72°C for 60s; and final elongation at 72°C for 7 min. Multiplex PCR reactions were performed in a final volume of 25µl using 4 µl of total extracted DNA from three pathogens as template (mixture of three bacteria). Master mix composition was as follows: PCR buffer 10X, 2.5 µl; MgCl<sub>2</sub> 25 mM, 2.5 µl; Taq DNA Polymerase 5U/µl, 0.5 µl; dNTPs 10mM, 1 µl; EC-F/R, 1 µl; SAL-F/R, 0.8 µl and LIS-F/R, 1 µl (concentration of each primer was 10 pmol) and distilled water 8.9 µl. Thermal cycler conditions were as follows: pre-denaturation at 94°C for 3 min; 35 cycles consisting of denaturation at 94°C for 30s, annealing at 57°C for 30s and extension at 72°C for 90s; and final elongation at 72°C for 10 min. PCR products were visualized via gel electrophoresis, with 1% agarose gels.

2 and 2 – Msc student and Assistant professor, Department of Biology, faculty of sciences, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad, Iran.

(\*Corresponding author: safieh.rajabzadeh@gmail.com)

**Results and Discussion:** The main focus of this work was on the use of rapid method instead of culturing stages for detection of foodborne pathogens from ready-to-eat vegetables. Lettuce was used as a model for ready-to-eat vegetables and inoculated with *E. coli* O157:H7, *salmonella* spp. and *L. monocytogenes*.

Multiplex PCR was performed after elution of bacteria from lettuce and the test provided a detection limit of 1 cfu/1g for three foodborne pathogenic bacteria

The primer selection and multiplex PCR optimization allowed the setting of a robust method with performances comparable to a duplex PCR system, when tested on a complex food system. The sensitivity and robustness of the method proposed, together with its ability to perform well on a complex food matrix, make it a suitable method to be implemented in control laboratories for the detection of the target pathogens in food samples.

**Key words:** Multiplex PCR, Foodborne Pathogens, Ready-To-Eat Vegetables, Rapid Detection



## مطالعه تاثیر غلظت نانو ذرات اصلاح شده رس بر برخی ویژگی های ریزساختاری و فیزیکی نانوکامپوزیت پلی اتیلن ترفتالات / نانورس

نازیلا دردمه<sup>۱</sup>، اصغر خسروشاهی<sup>۲\*</sup>، هادی الماسی<sup>۳</sup>، محسن زندی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۱۰

### چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر افزودن نانورس بر خصوصیات مکانیکی، رنگ سنجی و شفافیت فیلم های پلی اتیلن ترفتالات بود. بدین منظور نانوکامپوزیت بر پایه پلی اتیلن ترفتالات حاوی ۱٪، ۳٪ و ۵٪ وزنی نانورس اصلاح شده (Cloisite 15A) با روش مخلوط مذاب تهیه شد. نتایج طیفسنجی FTIR ایجاد پیوند بین گروه های سطحی هیدروکسیل موجود در نانورس با گروه های انتهایی هیدروکسیل و کربوکسیل در زنجیره پلی اتیلن ترفتالات خالص و در نتیجه تشکیل موفق نانوکامپوزیت حاوی نانورس را تایید نمود. نتایج آزمون مکانیکی نشان داد بیشترین مقدار مدول یانگ مربوط به نانوکامپوزیت حاوی ۳ درصد وزنی نانورس می باشد که حدود ۸ مگاپاسکال افزایش یافته است. همچنین افزودن نانو رس تا سطح ۳ درصد میزان نفوذ پذیری بخار آب را حدود ۸۳/۵ درصد نسبت به فیلم پلی اتیلن ترفتالات خالص کاهش می دهد. اگرچه با افزودن نانورس از شفافیت فیلم های نانوکامپوزیتی حاصل کاسته شده، با این حال افزودن این نانو ذرات سبب کاهش درصد عبور امواج در هر سه ناحیه UV شد که باعث بهبود اثر حفاظتی فیلم به عنوان بسته بندی مواد غذایی می گردد.

**واژه های کلیدی:** پلی اتیلن ترفتالات، نانورس، نانوکامپوزیت، خواص مکانیکی، تراوایی نسبت به بخار آب

### مقدمه

بعد از ساخت نانوکامپوزیت نایلون ۶/۶ رس توسط گروه تحقیقاتی تیوتا در سال ۱۹۸۶، تولید نانوکامپوزیت پلیمری/ رس با هدف ارتقاء خواص فیزیکی، مکانیکی، حرارتی و بازدارندگی بصورت فراوان مورد مطالعه قرار گرفته است (Kim et al., 2007). نانوکامپوزیت ها به گروهی از مواد شامل دو فاز پلیمر و پرکننده های آلی و غیر آلی اطلاق می شود که پرکننده حداقل در یکی از ابعاد دارای اندازه ی نانومتر می باشد و به یکی از روش های اختلاط به حالت محلول، پلیمریزاسیون در محل، اختلاط به حالت مذاب و اختلاط به حالت جامد تولید می شود. فرایند اختلاط به حالت مذاب، شامل مخلوط کردن سیلیکات لایه ای در حالت حرارت دهی مخلوط تا بالای محدوده ی نرم شدن پلیمر است. در طول فرایند حرارت دهی، زنجیرهای پلیمری به فضای بین لایه های سیلیکات نفوذ می کنند (Kim, 2007; Pavlidoua &

Papaspyridesb, 2008; Bandyopadhyay & Ray, 2012).

محققان زیادی روش اختلاط مذاب را به دلیل هزینه پایین، سادگی، امکان پذیر و دوستدار محیط زیست بودن بعنوان بهترین روش تولید نانوکامپوزیت پیشنهاد کرده اند (Kráčalík et al., 2007; Parvinzadeh et al., 2010; Gasht & Moradian 2012; Parvinzadeh et al., 2010). پلی اتیلن ترفتالات (PET) از جمله پلاستیک های گرمانرم<sup>۴</sup> مهندسی است که به دلیل قیمت پایین، پایداری شیمیایی، مقاومت در برابر فشار و خواص نوری خوب بصورت گسترده در مواد بسته بندی پلاستیک (مانند بطری های نوشیدنی های غیر الکلی، بسته بندی مواد غذایی و دارویی) و فیلم های باکارایی بالا مورد استفاده قرار می گیرد (پروینزاده گشتی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Parvinzadeh et al., 2010; Scaffaro et al., 2011). اثر بازدارندگی ناشی از افزودن نانورس به درون ماتریس پلیمری به میزان نانورس، ماهیت نانورس (اولیه با اصلاح شده) و حالت دیسپرسیون (اندازه نسبت منظر و جهت گیری) بستگی دارد (Guillard et al., 2013). سیلیکات های لایه ای به واسطه داشتن ساختار لایه ای و قابلیت پراکنش یکنواخت در بین زنجیرهای پلیمر، در تولید

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه

(\*) - نویسنده مسئول: (Email: a.khosrowshahi@gmail.com)

DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.48411

Southern Clay آمریکا خریداری شدند.

### تهیه نانوکامپوزیت

پلی اتیلن ترفتالات و نانورس هریک به طور جداگانه در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت به ترتیب در دمای ۱۱۰ و ۸۰ درجه سانتی گراد خشک شدند. نانورس اصلاح شده در سه غلظت ۱، ۳ و ۵٪ وزنی به پلی اتیلن ترفتالات خالص افزوده شد. با توجه به طرفیت دستگاه وزن کلی ۳۰۰ گرم بود. روش اختلاط مذاب با استفاده از اکسترودر دومارپیچی همسوگرد (مدل ZSK 25 ساخت شرکت Coperion آلمان) با نسبت طول به قطر (L/D) ۴۰ و قطر ۲۵ mm انجام شد. اکسترودر مزبور دارای ۶ ناحیه گرمایی است که هر کدام جداگانه کنترل می شوند. برای ساخت فیلم های نانوکامپوزیت نیم رخ دمایی به ترتیب (از محل تغذیه تا قالب) ۲۵۰، ۲۷۰، ۲۷۵، ۲۷۰، ۲۷۰ و ۲۶۵ درجه سانتی گراد با سرعت چرخش ۲۵۰ rpm در نظر گرفته شد. دستگاه یادشده مجهز به سیستم گرانیول ساز رشته ای می باشد که مذاب پلیمر، در حالت رشته پس از خنک شدن در آب سرد در یک دستگاه خردکن به شکل گرانیول در می آید. همچنین برای تهیه فیلم از دستگاه پرس پخت با دمای ۲۸۰ درجه سانتی گراد تحت فشار ۵ MPa استفاده شد.

### اندازه گیری ضخامت فیلم ها

برای تعیین ضخامت فیلم ها از میکرومتر با دقت ۰/۱ mm استفاده شد. اندازه گیری در ۱۵ نقطه ای مختلف فیلم انجام گرفت و سپس میانگین آن ها محاسبه شد. میانگین ضخامت محاسبه شده در تعیین نفوذپذیری نسبت به بخار آب استفاده گردید.

### طیف سنج فرو سرخ

طیف سنج زیرقرمز (FTIR) Brucker (مدل Tensor 27) برای تعیین برهمکنش ممکن در سطح نانوکامپوزیت استفاده شد. ابتدا نمونه ها با نسبت یک درصد با KBr خالص بصورت پودر کاملاً یکنواخت شده و سپس با استفاده از دستگاه پرس قرص شفاف از پودر مذکور تهیه و طیف سنجی در محدوده  $4000-500 \text{ cm}^{-1}$  انجام شد.

### خواص مکانیکی

برای بررسی خواص مکانیکی فیلم ها از دستگاه بافت سنج (مدل H10KS طبق استاندارد ASTM D882) استفاده شد (Material, 1995). از هر فیلم نمونه ای به شکل دمبل با ابعاد  $8 \times 0.5 \text{ cm}$  بریده شد و در بین دو فک با فاصله اولیه ۵۰ میلی متر و سرعت حرکت ۵۰ mm/min قرار گرفت.

نانوکامپوزیت ها استفاده می شوند. مونت موریلونیت (MMT)، پرکاربردترین سیلیکات لایه ای است که به دلیل اندازه کوچک و نسبت منظر بالا و قابلیت جدا شدن و پخش شدن در داخل ماتریس پلیمر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. MMT بدلیل دارا بودن کاتیون سدیم، ماهیت آبدوست داشته در نتیجه جهت افزایش سازگاری با پلیمرهای آلی از نانورس های اصلاح شده با سورفاکتانت های کاتیونی (مانند نمک آمونیوم چهار ظرفیتی) استفاده می شود (Fischer et al., 1999; Calcagno et al., 2007). افزودن نانورس اصلاح شده به درون ماتریس PET یک روش اقتصادی جهت کاهش ضخامت و افزایش خواص بازدارندگی و مکانیکی محصول نهایی مانند فیلم ها و بطری های با کارایی بالا می باشد (Pisano & Figiel, 2013). پژوهشگران دریافته اند افزودن کلوزیت ۱۵A به ماتریس پلیمری PET موجب افزایش مدول ینانگ نانوکامپوزیت ها (Fischer et al., 1999; Calcagno et al., 2007). و افزایش جذب نور نسبت به فیلم پلی اتیلن ترفتالات خالص می شود (Pisano & Figiel, 2013). با مروری که بر منابع انجام شده است، مشخص شد که در مورد خواص بازدارندگی در برابر انتقال بخار آب و فیزیکی سامانه نانوکامپوزیت پلی اتیلن ترفتالات/ کلوزیت 15A مطالعه اندکی صورت گرفته است. از آنجا که ساختار نانوکامپوزیتها نقش بسزایی در ماهیت سازوکارهای تغییر شکل پلاستیک و در پی آن خواص بازدارندگی پلیمرها دارد، دریافتن این ارتباط می تواند در پیش بینی و بهبود خواص این دسته از مواد بسیار راهگشا باشد. در این تحقیق فیلم نانوکامپوزیت پلی اتیلن ترفتالات-نانورس در غلظت های مختلف ۱٪، ۳٪ و ۵٪ وزنی با روش مخلوط مذاب تهیه و تاثیر افزودن نانورس بر خواص مکانیکی، بازدارندگی در برابر انتقال بخار آب و رنگ و شفافیت فیلم ها بررسی شد. هدف از این پژوهش بررسی اثر تقویت کننده نانورس بر روی سازوکار تغییر شکل در ماتریس های پلیمری بود. در واقع نتایج این پژوهش، نشان دهنده نقش نانو رس برای بهبود خصوصیت فیلم است.

### مواد و روش ها

#### مواد

گرانیول پلی اتیلن ترفتالات نوع بطری با ویسکوزیته ذاتی (IV)<sup>۲</sup> ۰/۸۲ از پتروشیمی تندگویان و نانوذرات رس اصلاح شده با نام تجاری کلوزیت 15A (Cloisite 15A) اصلاح شده با دی متیل تالوی هیدروژن زدایی شده آمونیوم چهار تایی<sup>۳</sup> (2M2HT) تولید شده در شرکت

1 Montmorillonite

2 Intrinsic viscosity

3 Dimethyl, dehydrogenated tallow, quaternary ammonium

## نفوذ پذیری نسبت به انتقال بخار آب

استفاده شد. فیلم‌ها به صورت نوارهایی با ابعاد  $4 \times 1$  سانتی‌متر مربع بریده شد و داخل سل اسپکترومتر قرار گرفتند. سل خالی بعنوان شاهد در نظر گرفته شد. میزان جذب در دامنه طول موج نور مرئی-فرابنفش (۸۰۰-۲۰۰ نانومتر) اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول (۴) میزان شفافیت تعیین گردید (Zúniga et al., 2012)

$$\text{Transparency} = \frac{T_{600}}{X} \quad (4)$$

در این فرمول  $T_{600}$  میزان عبور در ۶۰۰ نانومتر و  $X$  ضخامت فیلم‌ها می‌باشد.

## تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمامی آزمون‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (version 21 for windows, SPSS Inc) مدل خطی (G.L.M) در سطح احتمال ۵٪ ( $P < 0.05$ ) و آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام می‌گیرد.

## نتایج و بحث

## ضخامت فیلم‌ها

فیلم‌ها شفاف، انعطاف‌پذیر و تاحدودی محکم بودند به طوری که به آسانی قابل جابجایی بودند. ضخامت فیلم‌ها در محدوده آزمایش بین ۱۸۰ تا ۲۰۰ میکرومتر بود.

## طیف‌سنجی مادون قرمز

نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز فیلم PET خالص و نانوکامپوزیت حاوی ۱٪، ۳٪ و ۵٪ نانورس در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که در تصویر دیده می‌شود، طیف این نانوکامپوزیت‌ها مشابه PET خالص بوده و تنها در چند قسمت دارای تفاوت می‌باشند. این تغییرات احتمالاً به سبب واکنش بین باندهای کششی O-H داخلی و گروه‌های O-H موجود در گروه‌های کربوکسیل انتهایی زنجیره PET با گروه‌های سطحی نانورس است (Pavlidou & Papaspyridesb, 2008). نتایج نشان داد که تمامی نانوکامپوزیت‌ها در محدوده ۳۶۳۰ معکوس سانتی‌متر دارای پیک بوده و این درحالی است که پیک فوق در PET خالص مشاهده نمی‌گردد. از سوی دیگر مطالعات پیشین نشان می‌دهد که نانورس به تنهایی نیز در محدوده ۳۶۳۰ معکوس سانتی‌متر دارای پیک می‌باشد (Kim, 2007). هونگ پینگ و همکاران گزارش نمودند که پیک در این محدوده مربوط به ارتعاشات کششی گروه عاملی OH موجود در ساختار نانورس می‌باشد (Hongping et al., 2004).

برای اندازه‌گیری آهنگ انتقال بخار آب از روش ASTM E96 استفاده شد (Material, 1995). برای این کار از ویال‌های مخصوصی با قطر ۲ cm و ارتفاع ۴/۵ cm استفاده شد. درپوش ویال‌ها دارای منفذی به قطر ۷mm بود که قطعه‌ای از فیلم مورد آزمون در این قسمت قرار گرفت. ۱۰cc آب مقطر درون ویال‌ها ریخته و قطعه‌ای از فیلم بریده شده به همراه درپوش روی ویال بسته شد. ویال‌ها توزین و درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفتند و به مدت یک هفته هر چند ساعت یکبار وزن ویال‌ها اندازه‌گیری شد. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها از روی کاهش وزن ویال‌ها تعیین شد. منحنی کاهش وزن ویال‌ها با گذشت زمان رسم شد و پس از محاسبه رگرسیون خطی، شیب خط محاسبه گردید. از تقسیم شیب خط مربوط به هر ویال به سطح کل فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، آهنگ انتقال بخار آب<sup>۱</sup> (WVTR) بدست آمد. سپس با استفاده از فرمول (۱) نفوذپذیری نسبت به بخار آب<sup>۲</sup> (WVP) محاسبه شد (الماسی و همکاران، ۱۳۸۸).

$$WVP = \frac{WVTR}{P(R_1 - R_2)} X \quad (1)$$

$X$ : ضخامت فیلم‌ها (m)

$P$ : فشار بخار آب خالص در  $25^\circ C$  (Pa)

$R_1$ : رطوبت نسبی در دسیکاتور (٪)

$R_2$ : رطوبت نسبی در ویال (٪)

این آزمون در مورد هر کدام از نمونه‌ها ۳ بار تکرار شد.

## اندازه‌گیری رنگ

رنگ سطحی فیلم‌ها با استفاده از دستگاه رنگ-سنج Colorimeter Minolta مدل CR-410 ساخت ژاپن اندازه‌گیری شد. شاخص‌های کمی  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  که به ترتیب نمایانگر روشنایی (از  $L=0$  برای سیاه تا  $L=100$  برای سفید)، سبز تا قرمز (از  $a=-60$  برای سبز تا  $a=60$  برای قرمز) و آبی تا زرد (از  $b=-60$  برای آبی تا  $b=60$  برای زرد) می‌باشند، تعیین و اختلاف کل رنگ ( $\Delta E$ ) و سفیدی (WI) نیز با استفاده از روابط (۲) و (۳) محاسبه گردید. فیلم پلی اتیلن ترفتالات خالص بعنوان استاندارد انتخاب شد (الماسی و همکاران، ۱۳۸۸).

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

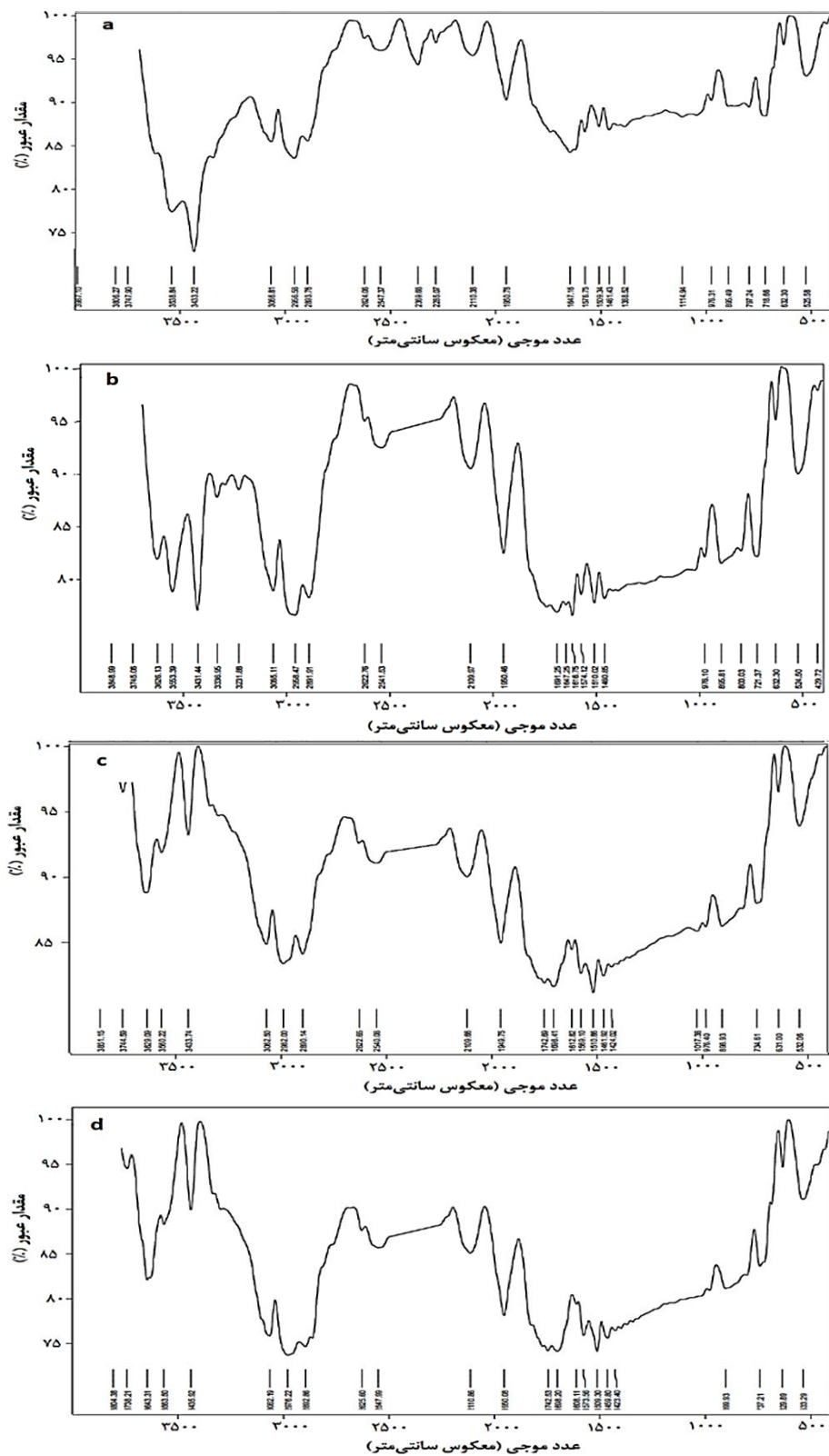
$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (3)$$

## اندازه‌گیری شفافیت

اسپکتروفوتومتر SPECORD برای اندازه‌گیری شفافیت فیلم‌ها

1 Water Vapor Transmission Rate

2 Water Vapor Permeability

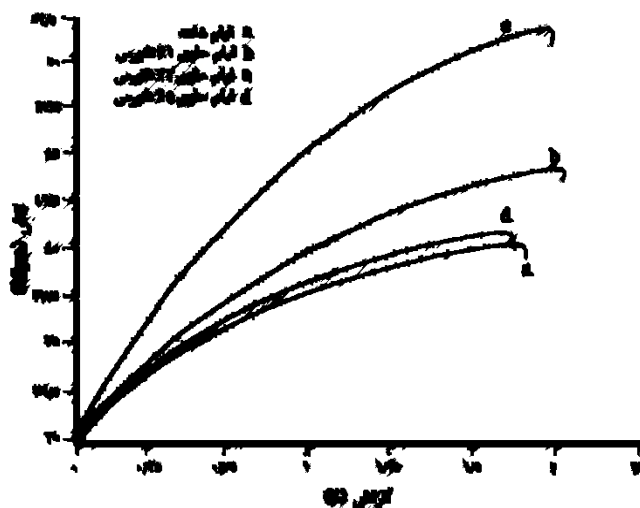


شکل ۱- طیف زیرقرمز فیلم (a) پلی اتیلن ترفتالات خالص و نانوکامپوزیت‌های آن در غلظت‌های (b) ۱، (c) ۳٪ و (d) ۵٪ وزنی نانورس

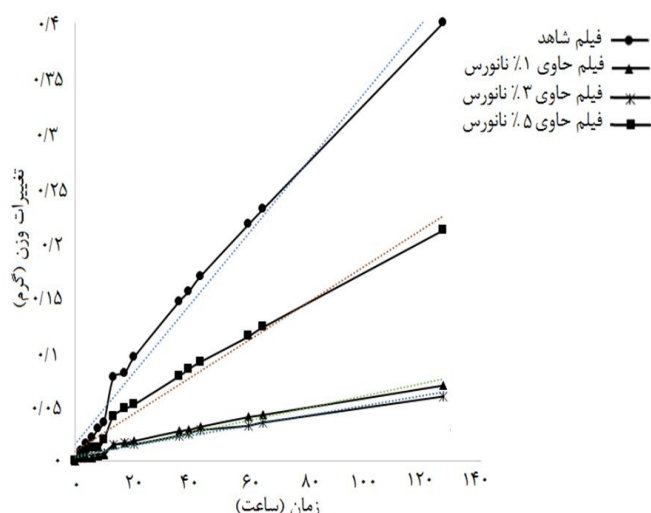
### خواص مکانیکی

یکی از مشخصه‌های بارز نانوکامپوزیت‌ها، خواص مکانیکی بهبود یافته از قبیل استحکام کششی، مدول الاستیسیته و سفتی است. چند فاکتور بر استحکام کششی نانوکامپوزیت‌ها تاثیر می‌گذارند که عبارتند از: برهمکنش بین نانو ذرات خاک رس و ماتریس پلیمری، روش تهیه نانوکامپوزیت و همچنین درصد نانو ذرات خاک رس (Alipour et al., 2011). منحنی تنش-کرنش فیلم‌های نانوکامپوزیت مطابق شکل ۲ می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود، مدول یانگ نانوکامپوزیت‌های تهیه‌شده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ داشتند. بیشترین مقدار مدول یانگ مربوط به نانوکامپوزیت حاوی ۳٪ وزنی نانورس می‌باشد که نسبت به فیلم پلی اتیلن ترفتالات خالص حدود ۸ مگاپاسکال افزایش یافته است (که از نتایج حاصل از تحقیق پیشین بدست آمده (Dardmeh et al., 2017)). یک دلیل احتمالی افزایش مدول یانگ، مربوط به لایه‌ای از پلیمر است که تحت تاثیر نانورس قرار گرفته و بعنوان ناحیه‌ای عمل می‌کند که جذب سطح نانورس شده و بدلیل ایجاد نیروی جاذبه و چسبندگی بین پرکننده و پلیمر سفت‌تر می‌شود. دلیل دیگر را می‌توان به نسبت منظر بالای سیلیکات‌های لایه‌ای و در نتیجه افزایش مساحت سطح تماس با پلیمر نسبت داد. افزایش مدول الاستیسیته در نانوکامپوزیت پلی‌اتیلن-ترفتالات/ نانورس توسط سایر پژوهشگران گزارش شده است (Kim et al., 2007; Veiga Barbosa & Machado Viana, 2010; Scaffaro et al., 2011; Ghanbari et al., 2013).

وجود پیوندهای Si-O-Si در ذرات نانورس با ارتعاشات کششی در محدوده عدد موجی ۹۰۰-۸۵۰ معکوس سانتی‌متر قابل رویت بوده که در PET خالص نسبت به نانوکامپوزیت حاوی ۱٪، ۳٪ و ۵٪ نانورس متفاوت است (پروین زاده گشتی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Pavlidoua & Papaspyridesb, 2008). از سوی دیگر با افزودن نانورس بر شدت پیک موجود در محدوده ۲۸۶۰-۲۹۸۰ معکوس سانتی‌متر افزوده می‌شود. این پیک مربوط به ارتعاشات کششی بین C-H است. نانورس استفاده شده در این پژوهش (15CA) با دی متیل آمونیوم اصلاح شده است که افزایش شدت در محدوده عدد موج فوق را می‌توان به ارتعاشات کششی و خمشی باند C-H موجود در گروه‌های  $\text{CH}_3$  و  $\text{CH}_2$  نسبت داد که این امر موید حضور زنجیره آلکیل در سطح نانورس است (Pavlidoua & Papaspyridesb, 2008; Brezinski, 1991). کاهش در شدت باند موجود در محدوده ۳۴۳۰ معکوس سانتی‌متر که با افزودن نانورس حاصل شده به سبب کاهش در پیوندهای بین ملکولی O-H با گروه‌های C=O و C-H در نانوکامپوزیت حاوی نانورس نسبت به PET خالص است (Pavlidoua & Papaspyridesb, 2008). نانورس دارای گروه‌های سطحی هیدروکسیل بوده و به‌نظر می‌رسد که با افزودن آن به PET، این گروه‌ها سبب افزایش پیوندهای سطحی با گروه‌های انتهایی هیدروکسیل و کربوکسیل در زنجیره PET خالص می‌گردد. نتایج حاصل از FTIR ایجاد این پیوندها بین نانورس و PET خالص و در نتیجه تشکیل موفق ساختار نانوکامپوزیت را نشان می‌دهد. محققان دیگری نیز تشکیل پیوند بین ماکرومولکول PET و نانوذرات رس را تایید نموده‌اند (Barber et al., 2005; Bikiaris et al., 2006; Ammala et al., 2008(a,b)).



شکل ۲- منحنی تنش-کرنش فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات خالص و نانوکامپوزیت‌های آن



شکل ۳- تغییرات وزنی ایجادشده در اثر نفوذ بخار آب فیلم پلی اتیلن ترفتالات حاوی درصدهای مختلف نانورس در طول زمان.

### آنالیز رنگ

رنگ فیلم‌های بسته‌بندی در کنار شفافیت آنها از عوامل مهم و تاثیرگذار در مقبولیت بسته‌بندی توسط مصرف‌کننده می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی آنالیز رنگ در جدول ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، افزودن نانورس بطور معناداری باعث کاهش روشنایی فیلم‌های تولیدی می‌گردد. از سوی دیگر اختلاف رنگ کلی نیز بطور معناداری با افزایش غلظت نانورس روند صعودی داشته و تنها در فیلم پلی اتیلن ترفتالات حاوی ۵٪ نانورس روند فوق برقرار نمی‌باشد. علت این امر هم مثبت شدن شاخص  $a^*$  بوده که باعث می‌گردد مقدار عددی  $\Delta E$  (با توجه به فرمول ۲) در سطح ۵٪ کمتر از سطح ۳٪ شود. با افزودن نانورس از شفافیت فیلم‌ها کاسته شده و رنگ آنها بطور معناداری زردتر می‌گردد ( $P < 0.05$ ). شاخص  $a^*$  نیز با افزایش سطح نانورس تغییر پیدا نمود. شاخص سفیدی (WI) به جز در سطح ۳٪ در تمامی سطوح نسبت به فیلم پلی اتیلن- ترفتالات خالص افزایش یافت.

### میزان عبور امواج فرابنفش و مرئی

اگرچه بسته‌بندی‌های شفاف باعث ایجاد اطمینان نسبت به کیفیت محتویات آن در مشتری نموده و بر جنبه‌های زیبایی محصول می‌افزاید، اما برخی از محصولات نسبت به تأثیرات نور حساس بوده و رنگ، بو و طعم آنها با حداقل اکسیداسیون حاصل از تأثیرات نور، دچار تغییرات محسوسی می‌شود. در انجام تحقیقات تأثیر نور بر روی مواد غذایی، نور مرئی نیز می‌تواند موجب تغییرات عمده در کیفیت مواد غذایی شود اما اشعه UV دارای اهمیت بیشتری می‌باشد. پرتوهای UV، دسته‌ای از تشعشعات الکترومغناطیسی هستند، که دارای

با توجه به پژوهش پیشین (Dardmeh *et al.*, 2017) و همانطور که از شکل ۲ مشخص است، با افزودن نانورس تا ۳٪ وزنی استحکام کششی و ازدیاد طول تا پاره‌گی به ترتیب ۲۹٪ و ۷٪ افزایش می‌یابد. درحالی‌که با افزایش غلظت آن تا ۵٪ وزنی میزان کرنش نهایی به کمترین مقدار رسیده و نانوکامپوزیت رفتار ترد نشان می‌دهد. برای توجیه این رفتار می‌توان به تمایل ذرات نانورس به آگلومره‌شدن در نسبت منظر بالا و تشکیل تکتوید<sup>۱</sup> یا میکروکامپوزیت اشاره کرد (پروین‌زاده گشتی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Kim *et al.*, 2007; Giraldi *et al.*, 2008).

### نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

شکل ۳ تاثیر میزان نانورس بر روی میزان نفوذپذیری فیلم‌های نانوکامپوزیت نسبت به بخار آب را نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، افزودن نانورس موجب افزایش معنادار بازدارندگی فیلم‌های نانوکامپوزیت نسبت به عبور بخار آب شده است ( $P < 0.05$ ) و به عبارت دیگر، ویژگی نفوذپذیری به بخار آب با افزودن نانورس در سطوح مختلف بهبود یافته است. کمترین و بیشترین میزان WVP برای فیلم پلی اتیلن ترفتالات حاوی ۳٪ نانورس و فیلم پلی اتیلن ترفتالات خالص بدست آمد. افزودن نانورس تا سطح ۳٪ میزان نفوذپذیری بخار آب را حدود ۸۳/۵٪ نسبت به فیلم پلی اتیلن ترفتالات خالص کاهش می‌دهد. کاهش نفوذپذیری به رطوبت در حضور کلویزیت ۱۵A به دلیل نسبت منظر بالای صفحات رس و ایجاد مسیر زیگزاگی و طولی برای عبور مولکول‌های بخار آب ماتریکس شده و به تاخیر انداختن فرایند انتشار در پلیمر است. هرچه میزان نانورس بیشتر شده این مسیرهای زیگزاگی بیشتر می‌گردد و در نتیجه بازدارندگی فیلم در برابر بخار آب و گازها نیز افزایش پیدا می‌کند. این امر برای سطح ۵٪ نانورس مستثنی بوده که با توجه به نتایج حاصل از خصوصیات فیزیکوشیمیایی می‌توان علت آن را به عدم اختلاط مناسب نانورس و ماتریس پلیمری و تشکیل تکتوید (که از نتایج حاصل از تحقیق پیشین بدست آمده (Dardmeh *et al.*, 2017) نسبت داد که باعث توزیع غیریکنواخت نانورس در پلی اتیلن می‌گردد. این امر همچنین به سبب تغییر در جهت‌گیری صفحات نانورس و یا تجمع یافتن نانوذرات در اثر افزایش غلظت آن از یک حد معین (۳٪) از دلایل دیگر این موضوع می‌باشد (Casariego *et al.*, 2009). نتایج بدست آمده از این تحقیق مشابه پژوهش‌های پیشین سایر محققان می‌باشد (Park *et al.*, 2002; Tang 2008; Casariego *et al.*, 2009). یافته‌های حاصل از این پژوهشگران نشان می‌دهد که ویژگی نفوذپذیری فیلم‌ها به نحوه توزیع و یکنواختی نانورس در فیلم و برهمکنش بین نانورس و فیلم بستگی دارد.

همانطور که در شکل ۴ نشان داده می‌شود، با افزایش درصد نانورس از شفافیت فیلم کاسته شده و فیلم حاوی ۵ درصد نانورس نسبتاً کدر می‌باشد.

به‌منظور سهولت در بیان اطلاعات بدست آمده، طول موج ۲۴۰nm به‌عنوان طول موج شاخص طیف UV-C، طول موج‌های ۳۰۰nm و ۳۶۰nm به‌ترتیب به‌عنوان طول موج شاخص نواحی UV-B و UV-A استفاده گردید. نتایج در جدول ۳ و ۴ نشان داده شده است.

دامنه‌ی طول موج بین ۴۰۰-۱۰nm و انرژی ۱۲۴-۳ eV بوده که به سه ناحیه و زیرگروه اصلی UV-C (۲۸۰-۲۰۰nm)، معمولاً توسط جو فیلتر شده)، UV-B (۳۲۰-۲۸۰nm، ۱٪ از کل پرتوهای UV) و UV-A (۴۰۰-۳۲۰nm، ۹۹٪ از کل پرتوهای UV) تقسیم می‌گردد. تصاویر فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات خالص و فیلم‌های نانوکامپوزیتی حاوی سطوح مختلف نانورس در شکل ۴ و تغییرات درصد نور تابشی عبور یافته از فیلم‌های پلی‌اتیلن ترفتالات حاوی سطوح مختلف نانورس در دامنه‌ی طول موج ۲۰۰-۱۱۰۰ nm در شکل ۵ نشان داده شده است.

جدول ۱- WVP فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات حاوی درصدهای مختلف نانورس

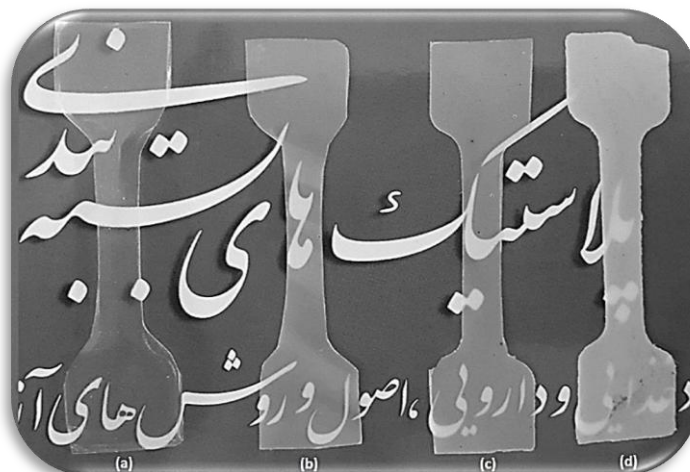
| نوع فیلم                               | میانگین ضخامت (mm) | $(WVO \times 10^{14}) (kg/m.s.Pa)$ |
|----------------------------------------|--------------------|------------------------------------|
| فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات خالص           | ۰/۱۸۹              | $13/80 \pm 0/12^a$                 |
| فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات حاوی ۱٪ نانورس | ۰/۱۸۲              | $2/49 \pm 0/09^b$                  |
| فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات حاوی ۳٪ نانورس | ۰/۲                | $2/17 \pm 0/10^c$                  |
| فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات حاوی ۵٪ نانورس | ۰/۱۹۷              | $7/98 \pm 0/09^d$                  |

\*حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ در آزمون دانکن است.

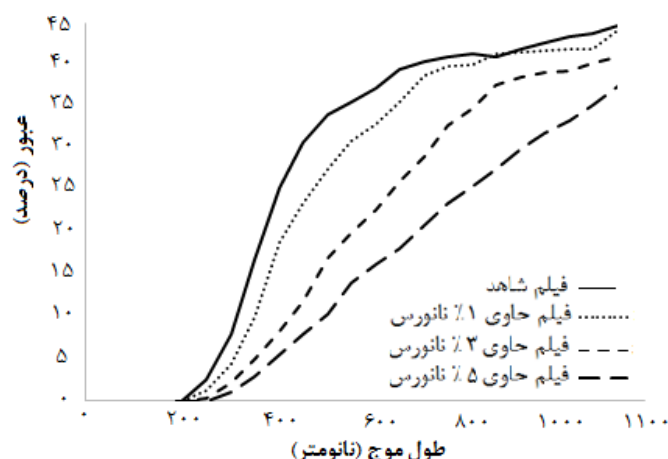
جدول ۲ - تاثیر افزودن نانورس بر شاخصه‌های رنگی فیلم

| نوع فیلم                               | L*                 | a*                  | b*                 | $\Delta E$         | WI                 |
|----------------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات خالص           | $77/45 \pm 0/50^a$ | $-13/78 \pm 0/15^a$ | $1/23 \pm 0/25^a$  | صفر                | $18/16 \pm 0/37^a$ |
| فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات حاوی ۱٪ نانورس | $72/37 \pm 0/50^b$ | $-12/80 \pm 0/50^b$ | $14/63 \pm 0/78^b$ | $14/36 \pm 0/84^a$ | $21/48 \pm 0/89^b$ |
| فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات حاوی ۳٪ نانورس | $69/10 \pm 0/1^c$  | $-8/46 \pm 0/50^c$  | $21/00 \pm 0/98^c$ | $60/04 \pm 0/86^c$ | $17/80 \pm 0/76^a$ |
| فیلم پلی‌اتیلن ترفتالات حاوی ۵٪ نانورس | $67/23 \pm 0/25^d$ | $2/77 \pm 0/75^d$   | $42/97 \pm 0/97^d$ | $56/62 \pm 0/82^b$ | $28/54 \pm 0/91^c$ |

\*اعداد جدول مقدار میانگین انحراف استاندارد می‌باشد. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ در آزمون دانکن است.



شکل ۴- نمای ظاهری نانوکامپوزیت‌های پلی‌اتیلن ترفتالات: (a) خالص، (b) حاوی ۱٪ نانورس، (c) حاوی ۳٪ نانورس، (d) حاوی ۵٪ نانورس.



شکل ۵- الگوی میزان عبور امواج طیف UV-Vis فیلم‌های پلی اتیلن ترفتالات حاوی درصدهای مختلف نانورس.

جدول ۳- میزان عبور پرتوهای نواحی مختلف UV فیلم‌های پلی اتیلن ترفتالات حاوی درصدهای مختلف نانورس.

| نوع فیلم                               | ۲۴۰ نانومتر T(%)  | ۳۰۰ نانومتر T(%)  | ۳۶۰ نانومتر T(%)   |
|----------------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| فیلم پلی اتیلن ترفتالات خالص           | $2/5 \pm 0/06^a$  | $7/87 \pm 0/21^a$ | $18/5 \pm 0/84^a$  |
| فیلم پلی اتیلن ترفتالات حاوی ۱٪ نانورس | $1/2 \pm 0/10^b$  | $4/33 \pm 0/39^b$ | $11/67 \pm 0/86^b$ |
| فیلم پلی اتیلن ترفتالات حاوی ۳٪ نانورس | $0/30 \pm 0/08^c$ | $2/13 \pm 0/27^c$ | $5/57 \pm 0/66^c$  |
| فیلم پلی اتیلن ترفتالات حاوی ۵٪ نانورس | $0/01 \pm 0/13^d$ | $1/12 \pm 0/35^d$ | $3/47 \pm 0/79^d$  |

جدول ۴- شفافیت فیلم‌های پلی اتیلن ترفتالات حاوی درصدهای مختلف نانورس.

| ترکیب فیلم                             | عبور (۶۰۰ نانومتر) | Transparency      |
|----------------------------------------|--------------------|-------------------|
| فیلم پلی اتیلن ترفتالات خالص           | ۰/۳۷۲۰             | $1/97 \pm 0/15^a$ |
| فیلم پلی اتیلن ترفتالات حاوی ۱٪ نانورس | ۰/۳۲۹۸             | $1/81 \pm 0/16^b$ |
| فیلم پلی اتیلن ترفتالات حاوی ۳٪ نانورس | ۰/۲۲۷۱             | $1/1 \pm 0/21^c$  |
| فیلم پلی اتیلن ترفتالات حاوی ۵٪ نانورس | ۰/۱۶۳۴             | $0/79 \pm 0/19^d$ |

همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است، فیلم خالص پلی اتیلن ترفتالات دارای میزان عبور  $2/5\%$ ،  $7/87\%$  و  $18/5\%$  به ترتیب در طول موج‌های ۲۴۰ نانومتر (ناحیه UV-C)، ۳۰۰ نانومتر (ناحیه UV-B) و ۳۶۰ نانومتر (ناحیه UV-A) می‌باشد. با افزودن نانورس و افزایش غلظت آن در ماتریس فیلم، درصد عبور امواج در هر سه ناحیه بطور معنی‌داری کاهش پیدا نمود. با این امر همچنین سبب کاهش شفافیت فیلم‌ها با افزایش درصد نانورس می‌گردد (شکل و جدول ۴). میزان توانایی نانورس در بلوکه نمودن پرتوهای UV به دو پارامتر نوع و میزان نانورس و نحوه توزیع نانولایه‌ها در ماتریس پلیمر بستگی دارد. با توزیع یکنواخت نانورس در شبکه فیلم، برهمکنش بین نانوذرات و زنجیره‌های پلیمری افزایش یافته و در نتیجه امکان ممانعت از عبور پرتوهای UV توسط نانولایه‌های رس، افزایش می‌یابد. این نتایج نشان می‌دهد که افزودن نانورس به ماتریس پلی اتیلن ترفتالات به منظور استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی

دارای اثر حفاظتی در برابر اشعه‌های مضر بوده و باعث افزایش ماندگاری محتویات بسته می‌گردد. ویژگی‌های کدورت و جذب زیاد پرتوهای UV فیلم‌های پلی اتیلن ترفتالات حاوی درصدهای مختلف نانورس نشان‌دهنده پتانسیل بالای کاربرد آن‌ها در بسته‌بندی مواد غذایی به منظور کاهش واکنش‌های فتوشیمیایی رایج در فرآیند فساد مواد غذایی می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

این پژوهش به منظور اصلاح برخی خواص پلی اتیلن ترفتالات و مخلوط آن با نانورس اصلاح شده انجام شد. با توجه به نتایج بدست آمده، خواص بازدارندگی، مکانیکی و رنگی پلیمر پس از ترکیب با نانو مواد تغییر یافت. نتایج طیف سنجی FTIR، برهمکنش بین ذرات نانورس با زنجیره‌های PET و در نتیجه تشکیل موفق نانوکامپوزیت حاوی نانورس را تایید نمود. افزودن نانورس تا سطح ۳٪ وزنی موجب

ماتریس پلی‌اتیلن ترفتالات به‌منظور استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی دارای اثر حفاظتی در برابر اشعه‌های مضر بوده و باعث افزایش ماندگاری محتویات بسته می‌گردد.

بهبود خواص مکانیکی و کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب شد. افزودن نانورس بطور معناداری باعث کاهش روشنایی فیلم‌های تولیدی، افزایش شاخص سفیدی و کاهش درصد عبور امواج در هر سه ناحیه UV گردید. نتایج پژوهش نشان داد که افزودن نانورس به

## منابع

- الماسی، ه.، قنبرزاده، ب.، و پزشکی نجف آبادی، ا. (۱۳۸۹). بهبود ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌های زیست تخریب پذیر نشاسته و فیلم‌های مرکب نشاسته و کربوکسی متیل سلولز. *فصلنامه علوم و صنایع غذایی*، (۳)، ۱۱-۱.
- پروین زاده گشتی، م.، مرادیان، س.، رشیدی، ا. و یزدان‌شناس، م. (۱۳۹۱). اثر نوع نانوسیلیس بر خواص نانوکامپوزیت پلی اتیلن ترفتالات -سیلیس. *مجله علوم و تکنولوژی پلیمر*، (۳)، ۲۵-۲۰۳.
- Alipour, A., Naderi, G., & Bakhshandeh, G. (2011). "Elastomer Nanocomposites Based on NR/ EPDM/ Organoclay: Morphology and Properties. *Int. Polym. Proc*, 26, 48-55.
- Giraldi, A., Bizarria, M., Silva, A., Velasco, J., d' A' vila, M., & Mei, L. (2008). Effects of Extrusion Conditions on the Properties of Recycled Poly(Ethylene Terephthalate)/Nanoclay Nanocomposites Prepared by a Twin-Screw Extruder. *Journal of Applied Polymer Science*, 108, 2252-2259.
- Parvinzadeh, M., Moradian, S., Rashidi, A., & Yazdanshenas, M.-E. (2010). Effect of the Addition of Modified Nanoclays on the Surface Properties of the Resultant Polyethylene Terephthalate/Clay nanocomposites. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 49, 874-884.
- Ammala, A., Ammala, C., & Dean, K. (2008). Poly(ethylene terephthalate) clay nanocomposites: Improved dispersion based on an aqueous ionomer. *Compos. Sci. Technol.*, 68, 1328-1337.
- Bandyopadhyay, J., & Ray, S. (2012). Clay-containing poly(ethylene terephthalate) PET-based polymer nanocomposites. *woodhead publishing limited*.
- Barber, G., Calhoun, B., & Moore, R. (2005). Poly(ethylene terephthalate) ionomer based clay nanocomposites produced via melt extrusion. *Polymer*, 46, 6706-6714.
- Bikiaris, D., Karavelidis, V., & Karayannidis, G. (2006). A New approach to prepare poly(ethylene terephthalate)=silica nanocomposites with increased molecular weight and fully adjustable branching or cross-linking by SSP. *Macromol. Rapid Commun*, 27, 1199-1205.
- Brezinski, D. (1991). *An Infrared Spectroscopy Atlas for the Coatings Industry*. Pennsylvania: Federation of Societies for Coating Technology.
- Calcagno, C., Mariani, C., Teixeira, S., & Mauler, R. (2007). The effect of organic modifier of the clay on morphology and crystallization properties of PET nanocomposites. *Polymer*, 48, 966-974.
- Casariego, A., Souza, B., Cerqueira, M., Teixeira, J., Cruz, L., Diaz, R., & Vicente, A. (2009). Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1631-2030.
- Dardmeh, N., Khosrowshahi, A., Almasi, H., & Zandi, M. (2017). Study on effect of the polyethylene terephthalate /nanoclay nanocomposite film on the migration of . *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), 1-9.
- Fischer, H., Gielgens, L. H., & Koster, T. (1999). Nanocomposites from Polymers and Layered Minerals. *Acta Polym*, 50, 122-126.
- Ghanbari, A., Heuzey, M. C., Carreau, P. J., & Ton-That, M. T. (2013). Morphological and rheological properties of PET/clay nanocomposites. *Rheol Acta*, 52, 59-74.
- Guillard, V., Chevillard, A., Gastaldi, E., Gontard, N., & Angellier-Coussy, H. (2013). Water transport mechanisms in wheat gluten based (nano)composite materials. *European Polymer Journal*, 49, 1337-1346.
- Hongping, H., Ray, F., & Jianxi, Z. (2004). Infrared study of HDTMA<sup>+</sup> intercalated montmo- rillonite, *Spectrochim*. 60, 2853-2859.
- Kim, K., Kim, K. H., Huh, J., & Jo, W. H. (2007). Synthesis of Thermally Stable Organosilicate for Exfoliated Poly(ethylene terephthalate) Nanocomposite with Superior Tensile Properties. *Macromolecular Research*, 15(2), 178-184.
- Kim, S.-g. (2007). PET nanocomposites development with nanoscale materials. Toledo university.
- Kráčalík, M., Mikešová, J., Puf, R., Baldrian, J., Thomann, R., & Friedrich, C. (2007). Effect of 3D structures on recycled PET/organoclay nanocomposites. *Polymer Bulletin*, 58, 313-319.
- Laia, M., Chang, K., Huang, W., Hsua, S., & Yeha, J. (2008). Effect of swelling agent on the physical properties of PET-clay nanocomposite materials prepared from melt intercalation approach. *J. Phys. Chem. Solids*, 69, 1371-1374.

- Material, S. T. (1995). E96-95. Annual Book of ASTM, Philadelphia, American Society for Testing and Materials, .
- Park, H., Li, X., Un, C., Park, C., & Cho, W. (2002). Preparation and properties of biodegradable thermoplastic starch/clayhybrids. *Macromolecule Materials and Engineering*, 287, 553-558.
- Parvinzadeh Gasht, M., & Moradian, S. (2012). Effect of Nanoclay Type on Dyeability of Polyethylene Terephthalate/Clay Nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 125, 4109-4120.
- Pavlidoua, s., & Papaspyridesb, C. (2008). A review on polymer-layered silicate nanocomposites. *Progress in Polymer Science*, 33, 1119-1198.
- Pisano, C., & Figiel, Ł. (2013). Modelling of morphology evolution and macroscopic behaviour of intercalated PET-clay nanocomposites during semi-solid state processing. *Composites Science and Technology*, 75, 35-41.
- Scaffaro, R., Botta, L., Ceraulo, M., & La Mantia, F. P. (2011). Effect of Kind and Content of Organo-Modified Clay on Properties of PET Nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 122, 384-392 .
- Tang, X. (2008). Use of extrusion for synthesis of starch-clay nanocomposites for biodegradable packaging films. PhD thesis, Food science institute, College of agriculture, Kansas state university.
- Veiga Barbosa, C., & Machado Viana, J. (2010). Nano- and Multiscale Polymer Composites. Universidade do Minho TECNA SOE1/P1/E184.
- Zúniga, R., Skurtys, O., Osorio, F., Aguilera, J., & Pedreschi, F. (2012). Physical properties of emulsion-based hydroxypropyl methylcellulose films:Effect of their microstructure. *Carbohydrate Polymers*, 90, 1147-1158.

## Study on the effect of the concentration of organically modified nanoclay on the microstructure and physical (mechanically, WVP and color) properties of Poly Ethylene Terephthalate (PET)- based nanocomposites

N. Dardmeh<sup>1</sup>, A. Khosrowshahi<sup>2\*</sup>, H. Almasi<sup>3</sup>, M. Zandi<sup>3</sup>

Received: 2015.06.13

Accepted: 2016.01.30

**Introduction:** Nanocomposites are prepared by introduction of dispersed nanoscale particles into the polymer matrix based on four methods: template synthesis (sol-gel preparation); intercalation of polymer; and in situ intercalative polymerization and last one is melt blending, the most favorable and practical method due to its simplest, economical and environmentally friendly technic. This method involves annealing, statically or under shear, a mixture of the polymer and organically modified clay at the softening point of the polymer based on usual compounding devices, such as, extruders or mixers (Papasparyidesb 2008).

PET is a semicrystalline thermoplastic polyester which has been extensively used in all sizes as a packaging material in direct contact with food, beverages and as an alternative packaging to polyvinyl chloride for edible oils (Kirwan *et al.* 2011).

As polymeric nanocomposites are mainly used as structural materials, the layered silicate clay are preferred. The crystal lattice of 2:1 layered silicates, consists of two-dimensional layers where a central octahedral sheet of alumina is fused to two external silica tetrahedral by the tip. Montmorillonite (MMT) belongs to type 2:1 layered smectite clay which in the basic structure, the trivalent Al-cation in the octahedral layer is partially substituted by the divalent Mg-cation (Pavlidou and Papasparyidesb 2008). As evident, MMT is greatly hydrophilic in the interlayer and incompatible with organic polymer such as PET, thus to increase compatibility of clay with polymer, inorganic inter-layer cations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  or  $\text{Ca}^{2+}$ ) exchanged by the cationic surfactants (e.g., quaternary ammonium salt). Modified MMT or organoclay interacts better with polymer due to its increased gallery space (Utracki *et al.* 2007; Parvinzadeh *et al.* 2010).

Three different types polymer/clay nanocomposites can be obtained depending on the preparation method and the nature of the components used, including polymer matrix, layered silicate and organic cation. Tactoid nanocomposites formed when stacks of modified layered silicates are retained after introduction into the polymer. Subsequently, interaction between the nanolayers and polymer is not only unsuccessful but reduces mechanical properties of composite as well.

Our main objective of this research was to study the effect of the nanoclay addition on mechanical, colorimetric and transparency properties of poly (ethylene terephthalate) (PET) nanocomposite films.

**Materials and methods:** Bottle-grade poly (ethylene terephthalate) granules with intrinsic viscosity of (IV) =  $0.82 \text{ dl g}^{-1}$  were provided by the Iranian Tondgooyan Petrochemical company. The organically modified montmorillonite, Cloisite 15A, was supplied by Southern Clay Products Inc. Standard of TPA was supplied from Fluka Chemical, trademarked Sigma-Aldrich Corp., Switzerland. High-pressure liquid chromatography (HPLC) grade water, aceto-nitrile, acetic acid and methanol (HPLC grade) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). TPA was dissolved into methanol with a slight increase in temperature. Working standard solutions were prepared on the day of use at concentrations of 0.4, 40, 100 and 1,000 ppb and calibration graphs were plotted using these concentrations of standard solutions.

The PET granules and nanoclay particles were dried in an oven for 24 h at 110 and 80C before extrusion, respectively. Melt blending technique was used for preparing nanocomposite films in a co-rotating twin screw extruder ZSK 25. The temperature profile (throat to die) was as follows: 250, 270, 275, 270, 270 and 265C with a screw speed of 250 rpm. PET granules were dry mixed with 1, 3, and 5% wt of Cloisite 15A. The total weight of material per batch was 300 g. The resulting nano-composite strand was cooled in a water bath, granulated and

1, 2 and 3— Msc student, Professor and Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran.

(\*Corresponding author: a.khosrowshahi@gmail.com)

dried overnight in oven at 110C. A laboratory press with a temperature plates of 280C under a pressure of 5 MPa for 10 min was applied to compress specimens. Then cooled them in water and ice bath to achieve transparent films.

The influence of different amount of nanoclay addition on resultant nanocomposites was studied by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and mechanical test. Also, influence of nanoclay presence on water vapor permeability (WVP), color and transparency of the nanocomposites were investigated.

**Results & Discussion:** The results showed that nanoclay addition improved the mechanical properties (Young's modulus, elongation at break and tensile strength) and WVP up to 3% (wt). However, nanoclay addition reduced the transparency of resultant nanocomposites films but it prevented wave transmission at three UV region which leads to better protective effect of film as a food packaging materials. It seems that introduction of Cloisite 15A into the PET matrix reinforced the mechanical properties of resultant nanocomposites. The Young's modulus of the nanocomposites significantly increased compared with the neat PET, indicating that PET/Cloisite 15A nanocomposites were stiffer than PET. The maximum Young's modulus was observed for PET/C15A containing 3% wt with an increment about 8 MPa. This increase in modulus may be attributed to uniform dispersion and alignment of nanoclay along with compatibility with PET matrix as confirmed by XRD, DSC and SEM. The Young's modulus enhancement is consistent with that of other research (KIMet al. 2007; Scaffaroet al. 2011; Ghanbari et al. 2013a,b]. Tensile strength like elongation at break shows same trend, increases on increasing nanoclay content except for nanocomposite containing 5% which indicates brittle behavior compared to PET. This can be explained considering that higher aspect ratio of nanoclay tends to aggregate and forms tactoids (as shown in SEM and XRD) and consequently indicates poor mechanical properties.

**Key Words:** PET, nanoclay, nanocomposite, mechanical properties, WVP

## بررسی عددی تغییرات منطقه سرد کنسرو غذایی نشاسته‌ای تحت تاثیر غلظت نشاسته و دمای اولیه پر کردن

آزاده رنجبر ندامانی<sup>۱</sup>، امان محمد ضیایی فر<sup>۲\*</sup>، مهدی پروینی<sup>۳</sup>، مهدی کاشانی نژاد<sup>۴</sup>، یحیی مقصودلو<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۴/۱۳

### چکیده

تعیین دقیق منطقه سرد کنسرو غذایی بواسطه دیرتر رسیدن آن به درجه استریلیزاسیون اهمیت بالایی در تعیین شدت یک فرایند حرارتی دارد. در این مطالعه با کمک روش‌های عددی، اثر غلظت محلول‌های ۳/۵ و ۵٪ نشاسته و دمای پرکردن ۵۰ و ۷۵ درجه سانتی‌گراد بر ژلاتینه‌شدن نشاسته و مکان نقطه سرد قوطی مورد مطالعه قرار گرفت. قوطی‌ها بدون سرفضای خالی و بصورت ایستا حرارت‌دهی شدند. نتایج نشان داد که در قوطی‌های بدون سرفضای خالی در حالت ایستا، نقطه سرد در نزدیکی یک-دهم انتهایی قوطی قرار دارد. تغییر غلظت نشاسته از ۳/۵ به ۵ درصد، باعث طولانی‌تر شدن زمان فرایند می‌شود. این افزایش زمان فرایند حرارتی، در یک-دهم انتهایی قوطی بیشتر از سه-دهم انتهایی است. زمان ثابت شدن دمای نقطه سرد در هر دو نقطه سه-دهم و یک-دهم انتهایی نیز با تغییر غلظت تغییر می‌کند. اختلاف دما در نمونه ۵ درصد در زمان ثبات دما بسیار چشمگیرتر از اختلاف دما در لحظه افزایش دما در نمودار حرارتی ۳/۵ درصد است. با افزایش غلظت نشاسته در محلول، زمان لازم برای جلوگیری از سیکل حرارتی در نمودار دما- زمان ( $f$ ) در سه-دهم انتهایی کاهش و در یک-دهم انتهایی افزایش می‌یابد. این اختلاف شیب در غلظت‌های ۳/۵ و ۵ درصد بیشتر از یک-دهم انتهایی است. علت آن ژلاتینه‌شدن سریع نشاسته در یک سوم انتهایی قوطی است.

**واژه‌های کلیدی:** دمای پرکردن، ماده غذایی با منحنی حرارتی شکسته، نفوذ حرارتی، منطقه سرد

### مقدمه

محصول یا کاهش کیفیت آن جلوگیری گردد (Karaduma et al. 2012). به همین دلیل، مطالعات انتقال حرارت در قوطی از اهمیت بالایی برخوردار است.

از جمله مهمترین فاکتورهای مؤثر در قوطی‌کردن مواد خوراکی مایع که انتقال حرارت در آن‌ها به‌صورت جابجایی است، ویسکوزیته سیال می‌باشد. هرچه ویسکوزیته سیال بیشتر باشد، مقاومت آن در برابر جابجایی افزایش و در نتیجه نرخ انتقال حرارت کندتر خواهد بود (Tattiyakul et al. 2002). Berry و همکاران (۱۹۷۹) و Bradshaw (۱۹۸۰)، به ترتیب روی نشاسته ذرت و سوپ کرفس، آزمون‌های نفوذ حرارتی انجام دادند و نتیجه گرفتند که با افزایش ویسکوزیته محصولات که قبل از فراوری اندازه گرفته شده بود، اندیس استریلیزاسیون کاهش یافت.

Ramaswamy و همکاران (۱۹۹۳) گزارش دادند که تغییر در ویسکوزیته نشاسته، به دلیل تغییر در غلظت از ۳٪ به ۴٪، باعث کاهش ۶۰٪ نرخ انتقال حرارت‌دهی شد. آن‌ها در این رابطه گزارش دادند که بعد از حرارت‌دهی دیسپرسیون‌های ۳ و ۴٪ نشاسته ذرت

یکی از روش‌های افزایش مدت ماندگاری بسیاری از مواد خوراکی، استفاده از فرآیندهای حرارتی است. در این فرآیندها، ماده خوراکی در مدت زمان معینی تحت دماهای نسبتاً بالا قرار می‌گیرد. درک پدیده انتقال حرارت در فرآیندهای استریلیزاسیون، از نقطه نظر بهبود طراحی فرایند برای رسیدن به استریلیته مناسب بدون آسیب رساندن به فاکتورهای کیفی محصول خوراکی، از اهمیت زیادی در صنایع غذایی برخوردار است.

در فرآیندهای استریلیزاسیون در قوطی، به دلیل پیچیدگی انتقال حرارت از محیط به قوطی و سپس به محصول، شناسایی الگوهای دمایی می‌تواند به استریلیزاسیون بهینه منجر شده واز پخته‌شدن

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانش آموزانه دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان  
۳- دانشیار، دانشکده مهندسی شیمی، نفت و گاز دانشگاه سمنان  
(Email: ziaifar@gmail.com)  
(\*) - نویسنده مسئول:

مومی با اتصالات عرضی در ریتورت دورانی انتها-به-انتها<sup>۱</sup>، ویسکوزیته ظاهری به دلیل ژلاتینه شدن نشاسته افزایش می‌یابد. Tattiyakul و همکاران (۲۰۰۲) به مطالعه عددی انتقال حرارت در دیسپرسیون ۳/۵٪ نشاسته در قوطی ۳۰۳×۴۰۶ تحت دوران ملایم rpm ۱۲-۵ در دمای ۱۲۱ °C ریتورت پرداختند. آن‌ها برای حل معادلات انرژی، جرم و حرکت، از روش عنصر محدود استفاده کردند. آن‌ها دریافتند که به دلیل دوران قوطی، در لایه مرزی دیواره قوطی نشاسته ژلاتینه شده وجود نداشت و داده‌های حاصل از شبیه‌سازی با داده‌های تجربی همخوانی داشتند. آن‌ها همچنین دریافتند که طبق نظر Rao و Yang (۱۹۸۸)، در صورت طبیعی بودن جابجایی، عدد ناسلت افزایش یافته و انتقال حرارت از بالای قوطی به پایین آن بهبود می‌یابد و اگر از جابجایی اجباری استفاده شود، در صورتیکه سرفضای خالی وجود نداشته باشد یا قوطی دوران داشته باشد، عدد ناسلت کاهش می‌یابد. Teixeira و Datta (۱۹۸۸) به صورت عددی پروفایل‌های سرعت و دمای انتقالی ماده خوراکی مایع‌قوطی شده در ریتورت ثابت را پیش‌بینی کرده و دریافتند که منطقه سرد در حدود یک-دهم انتهای قوطی تشکیل می‌شود. آن‌ها همچنین دریافتند در صورتیکه آب در قوطی به شکل ثابت حرارت ببیند، یک گردش سیال در کف قوطی مشاهده می‌شود. Kumar و همکاران (۱۹۹۰) نیز از روش عنصر محدود برای شبیه‌سازی حرارت‌دهی مواد خوراکی غیرنیوتنی در قوطی عمودی که فقط از دیواره بالایی تا دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد حرارت می‌دید، استفاده کردند. آن‌ها نتایج این شبیه‌سازی را با حالت هدایت مقایسه کردند. آن‌ها در نهایت به این نتیجه رسیدند که در حالت جابجایی طبیعی، منطقه سرد در نزدیکی کف قوطی باقی می‌ماند. Bhattacharya و Kumar (۱۹۹۱) انتقال حرارت در یک سیال شبه پلاستیک را که از تمام جهات در قوطی حرارت می‌دید، شبیه‌سازی کردند. آن‌ها مشاهده کردند که ضخامت لایه‌ای از سیال که در حال حرکت به سمت بالا می‌باشد، در مایعات غلیظ، حدود ۱۶-۱۵ mm است. Ghani و همکاران (۲۰۰۲) استریلیزاسیون در قوطی افقی حاوی سوپ پرتقال را بررسی کرده و محاسبه کردند که نرخ حرارت‌دهی در قوطی عمودی سریعتر بود. آن‌ها در این مطالعه با کمک دینامیک محاسباتی سیالات توسط نرم‌افزار فونیکس<sup>۲</sup> به روش حجم محدود، به صورت عددی پروفایل‌های درجه حرارت و سرعت را شبیه‌سازی کرده و دمای انتقالی، الگوی جریان و شکل منطقه سرد طی انتقال حرارت به روش جابجایی طبیعی را پیش‌بینی کردند. آن‌ها طی این مطالعه دریافتند که دمای منطقه سرد حداکثر به ۱۰۷ درجه سانتی‌گراد رسیده و به دلیل جابجایی طبیعی

به سمت کف قوطی حرکت کرده و در حدود ۲۵-۲۰٪ انتهای قوطی باقی می‌ماند. همچنین آن‌ها متوجه تشکیل یک جریان ثانویه و اثر آن بر منطقه سرد شدند. به‌طوریکه دریافتند یک جریان رو به بالا در دیواره و یک جریان رو به پایین در مرکز قوطی مشاهده می‌شود. در نهایت نتایج آزمایشات خود را با نتایج حالت عمودی قوطی بررسی کرده و دریافتند در حالت عمودی به دلیل بیشتر بودن طول قوطی، انتقال حرارت سریعتر است.

در مورد ژلاتینه شدن نشاسته و مدل‌های بیان شده برای آن طی حرارت‌دهی، Lagarrigue و Alvarez (۲۰۰۱) به مرور مدل‌های مربوطه پرداختند. آن‌ها اشاره کردند که نشاسته ژلاتینه شده در نرخ برشی  $s^{-1}$  ۱۵۰۰-۱، معمولاً از مدل قانون توان و هرشل-بالکلی پیروی می‌کند. هرچند رفتار دیسپرسیون‌های نشاسته اغلب رقیق-شونده با برش است، اما رفتار آن قبل از تورم، به دلیل محتوای بالای آب، مانند آب نیوتنی ( $Pa \cdot s$  ۰/۰۰۱ در ۲۰ درجه سانتی‌گراد) است اما در مراحل اولیه ژلاتینه شدن یا در دمای بالا (دمای ۱۲۱°C و غلظت پایین ۳/۵۹-۲/۷۲ w/w) رفتار غلیظ‌شونده و در مراحل بعد از ژلاتینه شدن تا انتهای فرآیند، رفتار رقیق‌شونده با برش از خود نشان می‌دهد (Lagarrigue and Alvarez, 2001). بطور کلی دیسپرسیون‌های ژلاتینه شده نشاسته در نرخ‌های برشی پایین، از خود تنش تسلیم نشان می‌دهند که این تنش تسلیم به غلظت نشاسته، وزن بخش متورم شده گرانول‌های نشاسته، متوسط قطر گرانول‌ها و روش ژلاتینه شدن بستگی دارد (Lagarrigue and Alvarez, 2001).

افزایش زمان حرارت‌دهی به منظور رسیدن منطقه سرد به درجه استریلیزاسیون، می‌تواند بر ویژگی‌های کیفی و تغذیه‌ای محصولات خوراکی تأثیر قابل توجهی داشته باشد. به همین منظور در مطالعات ذکر شده، تلاش شده است تا اثر ویسکوزیته و وابستگی آن با دمای حرارت‌دهی را بر نرخ انتقال حرارت در سیالات خوراکی بررسی کنند. از آنجایی که بیشتر سیالات خوراکی رفتار غیر نیوتنی از خود نشان می‌دهند، بیشتر مطالعات انجام شده در این زمینه، روی سیالات مدل که رفتار غیر نیوتنی دارند، انجام شده‌اند از جمله سوسپانسیون‌های بنتونیت، کربوکسی متیل سلولز و دیسپرسیون‌های نشاسته.

در این مطالعه اثر غلظت محلول‌های ۳/۵ و ۵٪ نشاسته و دمای اولیه ۵۰ و ۷۵ درجه سانتی‌گراد بر ژلاتینه شدن نشاسته و مکان نقطه سرد قوطی مورد مطالعه قرار می‌گیرد. در این تحقیق قوطی‌ها بدون سرفضای خالی و به صورت عمودی ایستا حرارت‌دهی می‌شوند. نتایج برای صنایع کنسروسازی که از حرارت در فرآیندهای خود استفاده می‌کنند، مفید خواهد بود. بنابراین، هدف این مطالعه، تحلیل عددی الگوهای دمایی ماده غذایی مدل بر پایه نشاسته است تا نقش آن بر تعیین مکان نقطه سرد مورد بررسی قرار گیرد.

1 End-over-end  
2 Computational Dynamic Fluids  
3 Phoenics

## مواد و روش‌ها

### تهیه دیسپرسیون نشاسته

در این تحقیق از دیسپرسیون‌های ۳/۵ و ۵٪ نشاسته استفاده شد. برای این منظور، در محلول‌های ۳/۵٪ و ۵٪ نشاسته، به ترتیب ۳/۵ و ۵ گرم پودر نشاسته در ۹۷/۵ و ۹۵ گرم آب مقطر با دمای ۲۵°C حل شد. نکته‌ای که در زمینه تهیه دیسپرسیون نشاسته وجود دارد، رسوب آن در ظرف طی حرارت‌دهی در قوطی است. برای این منظور از پیش گرم کردن تمام یا قسمتی از محلول نشاسته در مراحل اولیه ژلاتینه شدن (در دمای ۶۵-۵۰°C برای نشاسته ذرت و گندم) استفاده می‌شود. Keetels و همکاران (۱۹۹۶) روشی را برای محدود کردن ته نشست نشاسته پیشنهاد کردند. طبق این روش، ۲۰٪ وزن نشاسته مورد نظر، قبل از آزمون حرارت داده می‌شود تا ویسکوزیته فاز پیوسته افزایش یابد و سپس ۸۰٪ باقی قبل از ریختن نمونه در ظرف به آن اضافه می‌شود. Rao و Yang (۱۹۸۸) به منظور جلوگیری از رسوب نشاسته در قوطی طی استریلیزاسیون، محلول نشاسته را مدت ۵ دقیقه در ۷۵°C پیش گرم کردند. Tattiyakul و همکاران (۲۰۰۲)، دیسپرسیون ۵٪ نشاسته را تهیه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق هیدراته کردند. همین محققان در، از زمان ۲-۳ ساعت برای این کار استفاده کردند. از آنجا که در روش Keetels و همکاران (۱۹۹۶) امکان تبخیر آب به مقدار زیاد وجود دارد و این پدیده بر ویسکوزیته نهایی محصول اثر زیادی می‌گذارد (Lagarigue and Alvarez, 2001)، از این روش استفاده نشد. از طرف دیگر، در روش Tattiyakul و همکاران (۲۰۰۲) نیز عمل هیدراته کردن قادر به جلوگیری از رسوب نشاسته نبود و بعد از قراردادن قوطی در اتوکلاو و اتمام فرآیند حرارتی، ژل در کف ظرف تشکیل شد. به همین دلیل در این تحقیق از روش اصلاح شده Rao و Yang (۱۹۸۸) استفاده شد. برای این منظور، دیسپرسیون‌های نشاسته تهیه شده از گندم، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰°C پیش گرم شدند. درب ظرف طی این مدت بسته بود تا از تبخیر آب جلوگیری شود.

### آماده سازی نمونه

طبق روش آماده سازی دیسپرسیون نشاسته برای تهیه آن‌ها اقدام شد. سپس در دو دمای ۵۰°C و ۷۵°C عمل پر کردن قوطی‌ها انجام شد. در هر قوطی، ترموکوپل نوع T در مرکز قوطی تا عمق یک سوم انتهایی قرار داده شد. طبق پیش آزمایشات انجام شده، کمترین نقطه حرارتی قوطی حاوی دیسپرسیون نشاسته، در یک سوم انتهایی قوطی تعیین شد. آزمون نفوذ حرارتی طبق دستورالعمل حداقل در دو تکرار انجام می‌شود. برای این منظور از دیتالاگر ۸ پورتی و نرم افزار مربوط به آن (Pico-Log) استفاده شد. دما با فواصل زمانی ۱۰ ثانیه به مدت ۱۰۸۰۰ ثانیه از آغاز فرآیند تا زمان سرد شدن، ثبت و گراف-

های مورد نیاز رسم شدند.

### راه حل عددی معادلات مدل

راه حل‌های عددی معادلات توسط نرم افزار کامسول مولتی فیزیک ۱۴/۲ انجام شدند. از روش BDF وابسته به زمان استفاده شد. سیستم IntelVR CoreTM i5CPU M 460 @ 1.70 GHz and 6GB Ram برای حل معادلات استفاده شد.

### معادلات حاکم

مدل سازی عددی انتقال حرارت در سیستم دوفازی هوا- ماده غذایی در نرم افزار کامسول، شامل جفت کردن دو پدیده فیزیکی انتقال حرارت و جریان سیال است. این دو پدیده فیزیکی توسط معادلات مربوطه قابل حل می‌باشند. با توجه به اینکه سیستم مورد مطالعه، قوطی استوانه‌ای شکل حاوی مواد غذایی است که به طریق جابجایی طبیعی حرارت‌دهی می‌شود، برای این منظور از معادلات حاکم در انتقال حرارت غیر هم‌دما در جریان آرام<sup>۲</sup> استفاده شد. سپس معادلات حاکم برای انتقال حرارت غیر هم‌دما برای محیط تعریف شد. معادلات مربوط به مازول مورد استفاده که در این مسئله توسط نرم افزار حل شد، به شرح زیر بودند:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho u) = 0 \quad (۱) \text{ معادله پیوستگی}$$

$$c_p \frac{\partial T}{\partial t} + \rho c_p u \cdot \nabla T = \nabla \cdot (k \nabla T) + Q + Q_{vh} + W_p \quad (۲) \text{ معادله انرژی}$$

$$\rho \frac{\partial u}{\partial t} + \rho(u \cdot \nabla)u = \nabla \cdot \left[ -pI + \mu(\nabla u + (\nabla u)^T) - \frac{2}{3}\mu(\nabla \cdot u)I \right] + F \quad (۳) \text{ معادله جریان}$$

که در آن‌ها  $P$  فشار ثابت،  $U$  سرعت،  $T$  درجه حرارت،  $\mu$  ویسکوزیته،  $\rho$  دانسیته و  $F$  نیروی وزن بیرونی شامل اثرات جاذبه می‌باشند.

## شرایط مرزی و اولیه

شرایط مرزی<sup>۱</sup>:

|       |                               |                               |                   |       |              |
|-------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|-------|--------------|
| $v=0$ | $u=0$                         | $T=RT$                        | $0 \leq z \leq L$ | $r=R$ | دیواره       |
| $v=0$ | $u=0$                         | $T=RT$                        | $0 \leq r \leq R$ | $z=L$ | دیواره بالا  |
| $v=0$ | $u=0$                         | $T=RT$                        | $0 \leq r \leq R$ | $z=0$ | دیواره پایین |
| $v=0$ | $\partial u / \partial r = 0$ | $\partial T / \partial r = 0$ | $0 \leq z \leq L$ | $r=0$ | محور تقارن   |

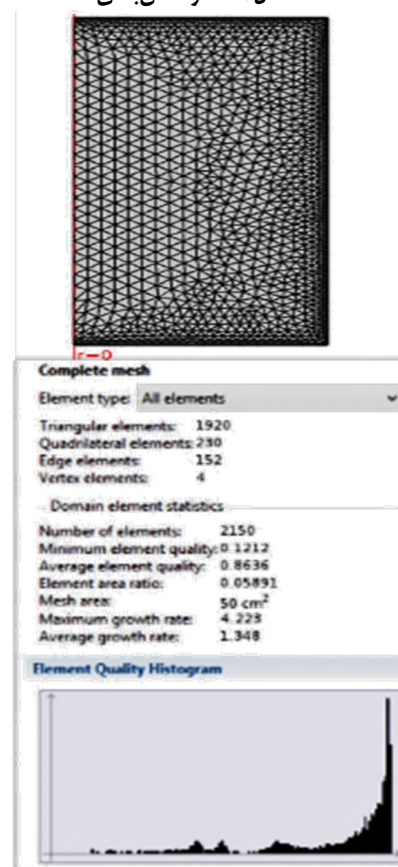
شرایط اولیه<sup>۲</sup> عبارت بودند از:

|       |       |                         |                   |                   |            |
|-------|-------|-------------------------|-------------------|-------------------|------------|
| $v=0$ | $u=0$ | $T=50-75^\circ\text{C}$ | $0 \leq z \leq L$ | $0 \leq r \leq R$ | محور تقارن |
|-------|-------|-------------------------|-------------------|-------------------|------------|

## مش بندی

در این مطالعه از مش به شرح مشخصات زیر استفاده شد:

شکل ۱- نحوه مش بندی هندسه



## فرضیات حل مسئله

الف- از مقاومت حرارتی دیواره قوطی صرف نظر شد (یانگ و

رائو، ۱۹۹۸ b).

ب- از آنجا که مقدار  $\eta_a$  طی ژلاتینه شدن می تواند از ۱۰ تا ۲۰۰۰ برابر بیشتر از دیسپرسیون ژلاتینه نشده نشاسته باشد، تغییرات در سایر ویژگی های سیال در برابر حرارت، نادیده و با ویژگی های آب در  $70^\circ\text{C}$  برابر در نظر گرفته شد (Yang and Rao, 1988a).

ج- طبق فرضیه (Yang and Rao, 1988a)، در این محاسبه فرض بر این بود که دمای لایه های مرزی به جز لایه مرزی کف قوطی، در  $60^\circ\text{C}$  ثانیه شبیه سازی به دمای محیط بادمای اتوکلاو (RT) برابر  $121^\circ\text{C}$  و در  $45^\circ\text{C}$  ثانیه شبیه سازی، به دمای اولیه (IT) در  $75^\circ\text{C}$  و  $50^\circ\text{C}$  می رسد. همچنین طبق مطالعه اردوگو و توتار (۲۰۱۲) درجه حرارت یکنواخت و ثابت دیواره، در حوزه جریان دیواره  $T_w = T = RT$  ایجاد شد.

د- داده های مربوط به سرد کردن محصول در نظر گرفته نشدند.  
ه- اثرات گرانشی ( $9/81 \text{ ms}^{-2}$ ) به عنوان نیروی جسمی<sup>۳</sup> بیان شد.  
و- از تخمین بوستویک برای دانسیته مواد خوراکی به عنوان تابعی از دما استفاده شد (Erdogdu and Tutar, 2012). در این مطالعه، از اندیس  $\beta$  که در مطالعات متعدد در منابع به کار رفته بودند، به منظور نشان دادن مواد غذایی ویسکوز استفاده شده است. مطالعات Kumar Ghani et al. 1990. Kumar and Bhattacharya, 1991 Kannan and Varma and Kannan, 2005 and 2006, al. 2002 Sandaka, 2008 and از این جمله اند.  
ز- سیال هموژن در نظر گرفته شد.  
ح- سرعت در دیواره قوطی برابر صفر در نظر گرفته شد.  
ط- فواصل زمانی ۰/۲ ثانیه در نظر گرفته شد.

## آنالیز داده های نفوذ حرارتی و محاسبه $f$ برای دیسپرسیون نشاسته

از آنجا که در آنالیز داده های نفوذ حرارتی، روش های فرمولی صحت بیشتری نسبت به روش های تجربی دارند (یانگ و رائو، ۱۹۹۸)، در این مطالعه از روش های فرمولی برای محاسبه  $f$  استفاده شد. دقت این محاسبات با روش CFD مورد بررسی قرار گرفت. فاکتور عکس شیب منحنی حرارتی استمحاسبه می شود:

<sup>3</sup> Body force

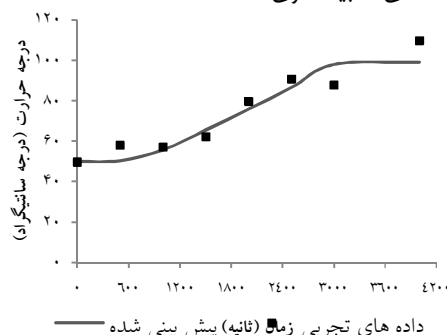
1 Boundary Conditions

2 Initial Conditions

## نتایج و بحث

### اعتبارسنجی مدل

همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، داده‌های شبیه‌سازی



شکل ۲- تغییرات درجه حرارت در حین استریلیزاسیون محلول ۳/۵٪ نشاسته (مقادیر شبیه‌سازی شده و داده‌های تجربی)

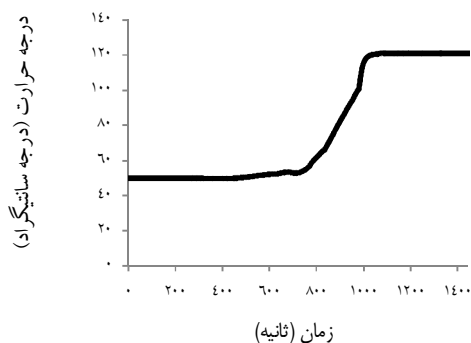
دما در ارتفاع یک-دهم انتهایی قوطی (شکل ۴) از ۸۱۵ ثانیه در غلظت ۳/۵٪ به ۹۹۴ ثانیه در غلظت ۵٪ می‌رسد (۲/۹۸ دقیقه) که نسبت به اختلاف دمای این دو غلظت در سه-دهم انتهایی قابل توجه است.

در این رابطه، Datta و Teixeira (۱۹۸۸) به صورت عددی پروفایل‌های سرعت و دمای انتقالی ماده خوراکی قوطی‌شده در اتوکلاو ثابت را پیش‌بینی کرده و دریافتند که منطقه سرد شبیه حلقه و در حدود یک دهم انتهایی قوطی تشکیل شد. Kumar و همکاران (۱۹۹۰) نیز دریافتند در حالت جابجایی طبیعی، منطقه سرد در کف قوطی باقی می‌ماند. سپس Ghani و همکاران (۲۰۰۲) استریلیزاسیون در قوطی افقی حاوی سوپ پرتقال را بررسی کرده و دریافتند که دمای منطقه سرد حداکثر به ۱۰۷°C رسیده و به دلیل جابجایی طبیعی به سمت کف قوطی حرکت کرده و در حدود ۲۵-۲۰٪ انتهایی قوطی باقی می‌ماند.

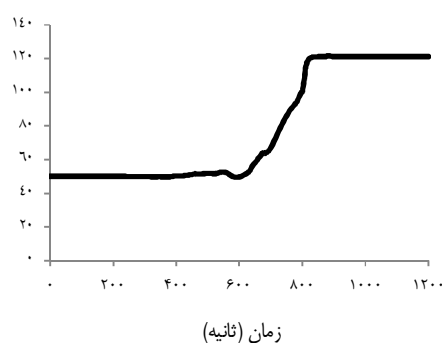
### درجه حرارت در سه-دهم انتهایی محور مرکزی قوطی

در قوطی‌های ایستا که حاوی سیالات با جابجایی طبیعی هستند، نقطه سرد بطور سنتی در سه-دهم انتهایی محور مرکزی قوطی در نظر گرفته می‌شود. در نتیجه در این مطالعه، درجه حرارت این نقطه به عنوان نقطه سرد مورد آزمایش قرار گرفت. منحنی‌های پیش‌بینی شده حرارتی در این نقطه، در برابر زمان در دو ارتفاع سه-دهم ( $r=0$  و  $L=3/5$ ) و یک-دهم ( $r=0$  و  $L=1/5$ ) رسم شدند. برای این کار در مرکز قوطی به شعاع صفر خطی تعریف شد و سپس نمودارهای دما، نرخ برشی و سرعت در جهت ارتفاع برای آن رسم شدند. این نمودارها هم برای نمونه‌های محلول ۳/۵٪ و هم برای نمونه‌های محلول ۵٪ نشاسته با دو دمای اولیه ۵۰°C و ۷۵°C رسم شدند.

همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در دمای اولیه ۵۰°C تغییر غلظت نشاسته از ۳/۵٪ به ۵٪ در محلول نشاسته، باعث می‌شود که نقطه افزایش دمای سه-دهم انتهایی قوطی از ۶۱۰ ثانیه به ۷۲۰ ثانیه افزایش پیدا کند (۱/۸۳ دقیقه اختلاف) در حالیکه این اختلاف

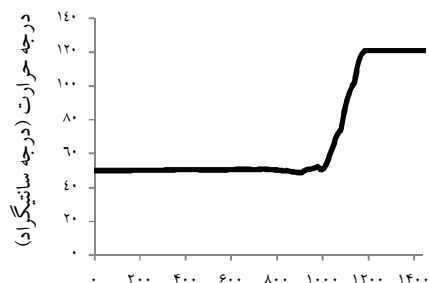


(ب) محلول ۵٪ نشاسته



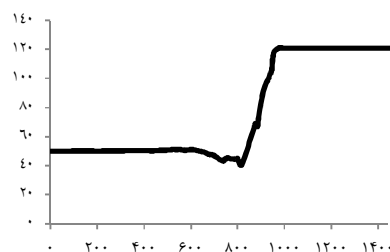
(الف) محلول ۳/۵٪ نشاسته

شکل ۳- تغییرات درجه حرارت در دمای پرمکدن ۵۰°C در  $r=0$  و  $L=3/5$



زمان (ثانیه)

(ب) محلول ۵٪ نشاسته



زمان (ثانیه)

(الف) محلول ۳/۵٪ نشاسته

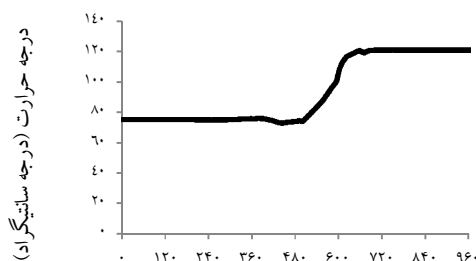
شکل ۴- تغییرات درجه حرارت دردمای پرکردن  $50^{\circ}\text{C}$  در  $r=0$  و  $L=1/5$

اختلاف دما در لحظه افزایش دما در نمودار حرارتی ۳/۵٪ است. همانگونه که Ramaswamy و همکاران (۱۹۹۳) گزارش دادند که تغییر در ویسکوزیته نشاسته، به دلیل تغییر در غلظت از ۳٪ به ۴٪، باعث کاهش ۶۰٪ نرخ انتقال حرارت دهی در آن می‌شود، علت این امر شاید به دلیل افزایش ویسکوزیته نمونه و کندتر شدن جابجایی لایه‌های ژلاتینه شده در نمونه ۵٪ باشد که می‌تواند بر نرخ انتقال حرارت تأثیر منفی گذاشته و آن را کاهش دهد.

در اشکال ۵ و ۶ نیز مشاهده می‌شود که در دمای اولیه  $75^{\circ}\text{C}$  تغییر غلظت نشاسته باعث تغییر در نقطه افزایش دما و نقطه ثبات دما می‌شود. به طوریکه در سه-دهم انتهایی نقطه آغاز افزایش دما در دو نمونه ۳/۵ و ۵٪، از ۲۵۵ ثانیه به ۵۰۱ ثانیه (۱/۸۲ دقیقه) تغییر می‌کند. این در حالی است که در یک-دهم انتهایی این تغییر به ترتیب از ۴۷۰ ثانیه به ۶۱۰ ثانیه (۲/۳۳ دقیقه) است. این اختلاف زمانی بین دو ارتفاع یاد شده در قوطی، قابل توجه است.

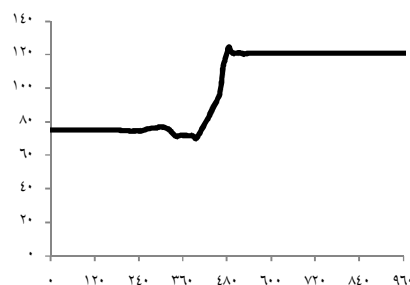
Dimou و Yanniotis (۲۰۰۲) به پیش‌بینی توزیع دما و پروفایل سرعت در قوطی حاوی آب نمک ۴٪ که دارای ذرات جامد ماده خوراکی (تعداد ۰، ۱، ۸ و ۱۹ عدد مارچوبه) بود، پرداختند. آن‌ها مشاهده کردند که منطقه سرد در حدود ۱۳/۵٪ از کف قوطی دیده شد که البته تحت تأثیر تعداد مارچوبه‌ها نبود. به این ترتیب می‌توان نتیجه گرفت این اختلاف زمانی بارز در سه-دهم انتهایی و یک-دهم انتهایی، نشان می‌دهد که در قوطی کاملاً پر، بخش یک-دهم انتهایی باید به‌عنوان منطقه سرد در نظر گرفته شود.

با مقایسه این نمودارها می‌توان مشاهده کرد که نقطه ثبات دما در هر دو نقطه سه-دهم و یک-دهم انتهایی نیز با تغییر غلظت تغییر می‌کند. به‌طوریکه در سه-دهم انتهایی، زمان ثبات دما از ۱۰۸۰ ثانیه در نمونه ۳/۵٪ به ۱۰۱۸ ثانیه در نمونه ۵٪ می‌رسد (۱/۰۳ دقیقه) و در یک-دهم انتهایی از ۹۷۵ ثانیه در نمونه ۳/۵٪ به ۱۱۸۵ ثانیه در نمونه ۵٪ می‌رسد (۳/۵ دقیقه). اما نکته جالب توجه در آن است که اختلاف دما در نمونه ۵٪ در زمان ثبات دما بسیار قابل توجه‌تر از



زمان (ثانیه)

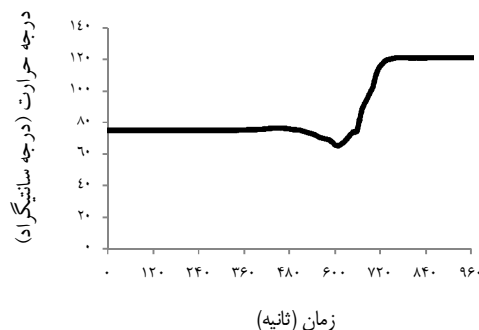
(ب) محلول ۵٪ نشاسته



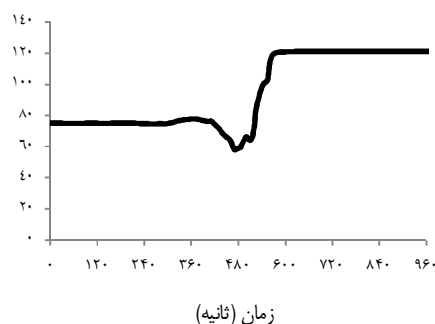
زمان (ثانیه)

(الف) محلول ۳/۵٪ نشاسته

شکل ۵- تغییرات درجه حرارت دردمای پرکردن  $75^{\circ}\text{C}$  در  $r=0$  و  $L=3/5$



(ب) محلول ۵٪ نشاسته



(الف) محلول ۳/۵٪ نشاسته

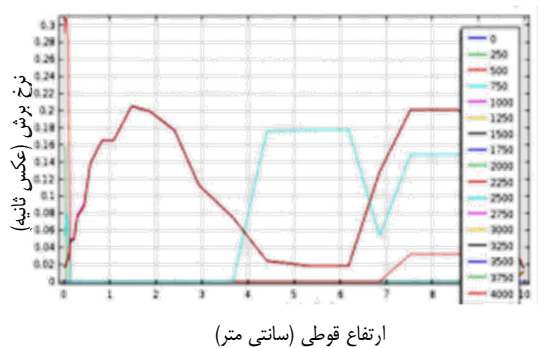
شکل ۶- تغییرات درجه حرارت دردمای پرمکون  $75^{\circ}\text{C}$  در  $r=0$  و  $L=1/5$

سه-دهم انتهای کاهش و در یک-دهم انتهای افزایش می‌یابد. این اتفاق به راحتی توسط اشکال نیروهای برشی در هر چهار تیمار قابل مشاهده است (شکل ۷ و ۸).

این امر دقیقاً به دلیل ژلاتینه‌شدن نشاسته است که طبق نظریه Yang و Rao (۱۹۸۸) با آغاز حرارت‌دهی ژلاتینه‌شدن لایه-های محلول نشاسته از دیواره شروع شده و به تدریج به سمت مرکز و کف پیش می‌رود. به همین دلیل محلول نشاسته در ارتفاع سه-دهم انتهای سریعتر از یک-دهم انتهای ژلاتینه شده و نرخ انتقال حرارت در آن کاهش می‌یابد. همچنین به دلیل اینکه در سه-دهم انتهای حجم بیشتری از محلول نشاسته درگیر ژلاتینه‌شدن می‌شود، این اختلاف شیب در غلظت‌های ۳/۵٪ و ۵٪ بیشتر از یک-دهم انتهای است. این پدیده طبق شکل ۹ و ۱۰ با مشاهده نمودار سرعت ارتفاعی در برابر ارتفاع قوطی قابل توضیح است.

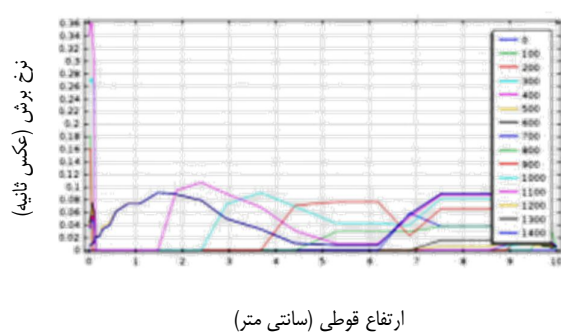
از طرفی طبق اشکال ۵ و ۶ نقطه رسیدن به ثبات دما در دو ارتفاع سه-دهم و یک-دهم انتهای نیز به همین ترتیب با تغییر ارتفاع و غلظت دستخوش تغییر می‌شود. به طوریکه به ترتیب از ۸۷۵ ثانیه به ۶۵۸ ثانیه (۳/۶۱ دقیقه) و از ۵۸۰ به ۷۳۴ ثانیه (۲/۵۷ دقیقه) می‌رسد.

اما نکته جالب توجه در اشکال ۳-۶، اختلاف شیب نمودارها با توجه به تغییر غلظت و ارتفاع مورد بررسی در قوطی می‌باشد. به طوریکه در هر دو تیمار دمای اولیه  $50^{\circ}\text{C}$  و  $75^{\circ}\text{C}$  شیب نمودار در سه-دهم انتهای قوطی با افزایش غلظت از ۳/۵٪ به ۵٪ به ترتیب از ۰/۱۱ به ۰/۲۲ و از ۰/۱ به ۰/۳ افزایش می‌یابد اما در یک-دهم انتهای قوطی شیب نمودارهای حرارتی با افزایش غلظت از ۳/۵٪ به ۵٪ به ترتیب از ۰/۵ به ۰/۳۷ و از ۰/۵۷ به ۰/۴۴ کاهش می‌یابد. از آنجا که عکس شیب نمودار حرارتی نشان‌دهنده  $r$  می‌باشد، طبق اشکال و توضیحات قبلی با افزایش غلظت نشاسته در محلول،  $r$  در



ارتفاع قوطی (سانتی متر)

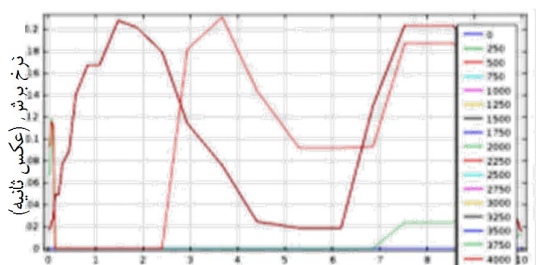
(الف)



ارتفاع قوطی (سانتی متر)

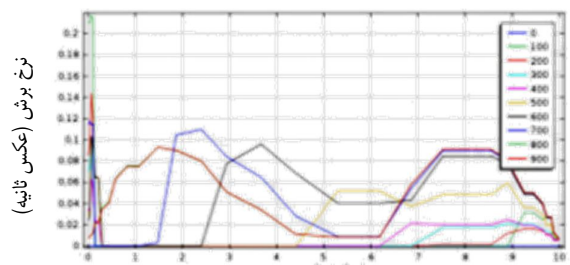
(ب)

شکل ۷- نمودار نرخ برش در برابر ارتفاع قوطی در شعاع صفر نمونه محلول ۳/۵٪ (الف) و ۵٪ (ب) نشاسته در دمای اولیه  $50^{\circ}\text{C}$



ارتفاع قوطی (سانتی متر)

(الف)



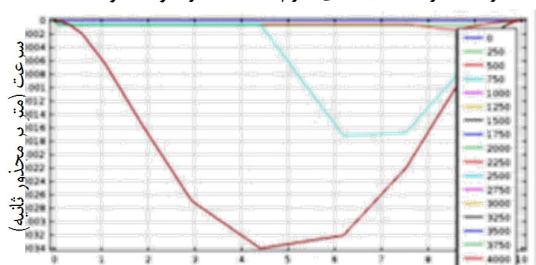
ارتفاع قوطی (سانتی متر)

(ب)

شکل ۸- نمودار نرخ برش در برابر ارتفاع قوطی در شعاع صفر نمونه محلول ۳/۵٪ (الف) و ۵٪ (ب) نشاسته در دمای اولیه ۷۵°C

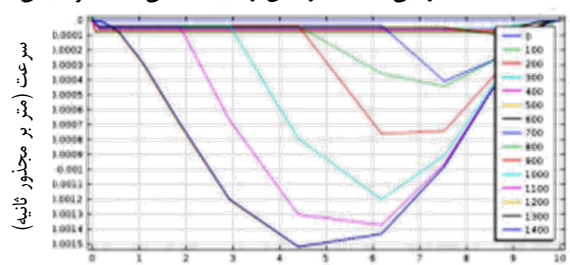
نظریه Rao و Yang (۱۹۸۸)، تا نزدیکی دمای ۹۲/۵°C در فاز ژلاتینه شدن باقی می ماند. اما در یک-دهم انتهای ارتفاع جابجایی سیال کمتر است و سیال حجم کمتری را اشغال کرده است که برای افزایش دمای آن زمان کمتری لازم است و در نتیجه سرعت ژلاتینه شدن و پس-ژلاتینه شدن در این منطقه بیشتر است. به این ترتیب سرعت حرکت لایه های گرم شده بالاتر خواهد بود.

همانطور که مشاهده می شود، در تمامی تیمارهای غلظت و درجه حرارت اولیه، کمترین مقدار سرعت در زمان های حرارت دهی، در نزدیکی سه-دهم انتهای قوطی است و بیشترین مقدار آن در یک-دهم انتهای قوطی. شاید دلیل این پدیده آن است که در سه-دهم انتهای، ارتفاع بیشتری برای جابجایی سیال وجود دارد و این در حالی است که نشاسته در این منطقه در حال ژلاتینه شدن است و طبق



ارتفاع قوطی (سانتی متر)

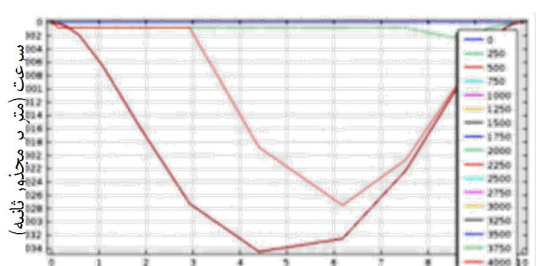
(الف)



ارتفاع قوطی (سانتی متر)

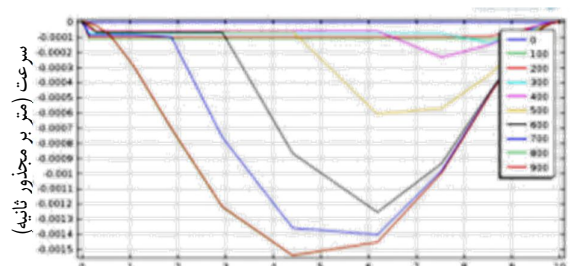
(ب)

شکل ۹- نمودار سرعت در جهت ارتفاع در برابر ارتفاع قوطی در شعاع صفر نمونه محلول ۳/۵٪ (الف) و ۵٪ (ب) نشاسته در دمای اولیه ۵۰°C



ارتفاع قوطی (سانتی متر)

(الف)

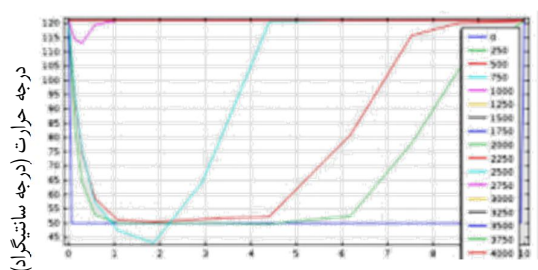


ارتفاع قوطی (سانتی متر)

(ب)

شکل ۱۰- نمودار سرعت در جهت ارتفاع در برابر ارتفاع قوطی در شعاع صفر نمونه محلول ۳/۵٪ (الف) و ۵٪ (ب) نشاسته در دمای اولیه ۷۵°C

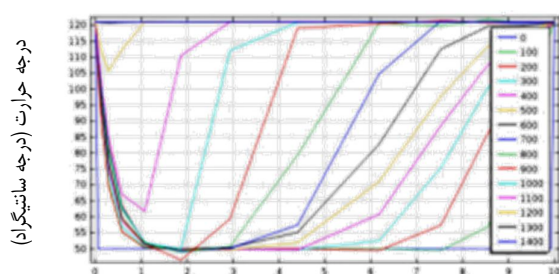
و بهتر است در فرآیندهای حرارتی قوطی‌های بدون سرفضای خالی، دمای ۱۰٪ انتهای قوطی به‌عنوان منطقه سرد مورد پایش قرار بگیرد.



ارتفاع قوطی (سانتی متر)

(الف)

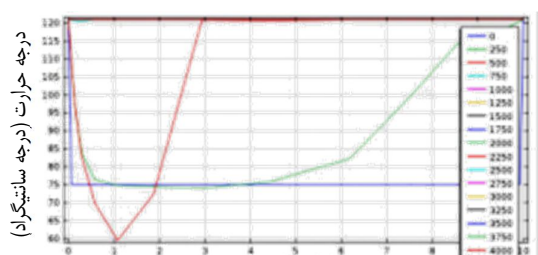
در نهایت با توجه به اشکال ۱۱ و ۱۲ و مطالب ذکرشده قبلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که انتخاب نقطه سه-دهم انتهایی به‌عنوان نقطه سرد قوطی‌هایی که به‌صورت کامل پر شده‌اند، امر اشتباهی بوده



ارتفاع قوطی (سانتی متر)

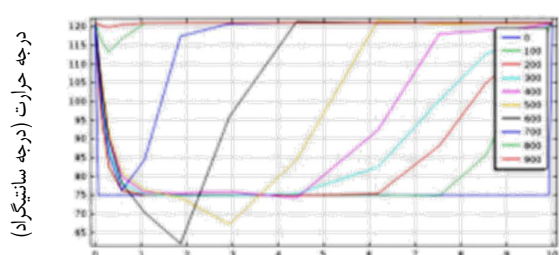
(ب)

شکل ۱۱- نمودار دما در برابر ارتفاع قوطی در شعاع صفر نمونه محلول ۳/۵٪ (الف) و ۵٪ (ب) نشاسته در دمای اولیه ۵۰°C



ارتفاع قوطی (سانتی متر)

(الف)



ارتفاع قوطی (سانتی متر)

(ب)

شکل ۱۲- نمودار دما در برابر ارتفاع قوطی در شعاع صفر نمونه محلول ۳/۵٪ (الف) و ۵٪ (ب) نشاسته در دمای اولیه ۷۵°C

دهم انتهایی نیز با تغییر غلظت تغییر می‌کند. اختلاف دما در نمونه ۵٪ در زمان ثابت دما بسیار قابل توجه‌تر از اختلاف دما در لحظه افزایش دما در نمودار حرارتی ۳/۵٪ است. با افزایش غلظت نشاسته در محلول، f در سه-دهم انتهایی کاهش و در یک-دهم انتهایی افزایش می‌یابد. این اختلاف شیب در غلظت‌های ۳/۵٪ و ۵٪ بیشتر از یک-دهم انتهایی است. علت آن زودتر ژلاتینه‌شدن محلول نشاسته در یک سوم انتهایی است.

## نتیجه‌گیری

به‌طور کلی در این مطالعه مشخص شد که در حالت حرارت‌دهی ایستا، نقطه سرد در نزدیکی یک-دهم کف قوطی بدون سرفضای خالی است. در هر دو دمای اولیه، تغییر غلظت نشاسته از ۳/۵٪ به ۵٪ در محلول نشاسته، باعث طولانی‌تر شدن زمان فرآیند می‌شود. این افزایش زمان فرآیند حرارتی، در یک-دهم انتای قوطی بیشتر از سه-دهم انتهایی است. نقطه ثابت دما در هر دو نقطه سه-دهم و یک-

## منابع

- Berry, M. R., Savage, R. A. and Pflug, I. J. 1979. Heating characteristics of cream-style corn processed in a Steritort: Effects of head space, reel speed and consistency. *Journal of Food Science*. 44(3): 831-835.
- Berry, M. R. and Bradshaw, J. G. 1980. Heating characteristics of condensed cream of celery soup in a Steritort: Heat penetration and spore count reduction. *Journal of Food Science*. 45(4): 869-879.
- Datta, A.K., and Teixeira, A.A. 1988. Numerically predicted transient temperature and velocity profiles during

natural convection heating of canned liquid foods. 1. *Food Science*. 53:191-195

Dimou, A., and Yanniotis, S., 2011. 3D numerical simulation of asparagus sterilization in a still can using computational fluid dynamics. *Journal of Food Engineering*. 104: 394-403.

Erdogdu, F., and Tutar, M. 2012. A computational study for axial rotation effects on heat transfer in rotating cans containing liquid water, semi-fluid food system and headspace. *International Journal of Heat and Mass Transfer*. 55: 3774-3788.

Ghani, A. G. A., Farid, M. M., and Chen, X. D. 2002. Theoretical and experimental investigation of the thermal destruction of Vitamin C in food pouches. *Computers and Electronics in Agriculture*. 34: 129-143.

Kannan, A., and Sandaka P.Ch. G. 2008. Heat transfer analysis of canned food sterilization in a still retort. *Journal of Food Engineering*. 88: 213-228.

Karaduman, M., Uyar, R., and Erdogdu, F. 2012. Toroid cans – An experimental and computational study for process innovation. *Journal of Food Engineering*. 111: 6-13.

Keetels, C. J. A. M., van Vilet, T., and Walstra, P. 1996. Gelation and retrogradation of concentrated starch systems: 1. Gelation. *Food Hydrocolloids*. 10(3): 343- 353.

Kumar, A., Bhattacharya, M. and Blaylock, J. 1990. Numerical simulation of natural convection heating of canned thick viscous liquid food products. *Journal of Food Science*. 55: 1403-1411.

Kumar, A., & Bhattacharya, M. 1991. Transient temperature and velocity profiles in a canned non-Newtonian liquid food during sterilization in a still-cook retort. *International Journal of Heat & Mass Transfer*. 34(4-5): 1083-1096.

Lagarrigue, S., Alvarez, G. 2001. The rheology of starch dispersions at high temperatures and high shear rates: a review. *Journal of Food Engineering*. 50: 189- 202.

Ramaswamy, H. S., Abbatemarco, C. and Sablani, S. S. 1993. Heat transfer rates in a canned food model as influenced by processing in an end-over-end rotary steam/air retort. *Journal of Food Processing and Preservation*. 17(4): 269- 286. Tattiyakul, J., Rao, M. A., and Datta, A. K. 2002. Heat transfer to three canned fluids of different thermo-rheological behaviour under intermittent agitation. *Trans IChemE*. 80: 20- 27.

Varma, M. N., and Kannan, A. 2005. Enhanced food sterilization through inclination of the container walls and geometry modifications. *International Journal of Heat and Mass Transfer*. 48: 3753-3762.

Varma, M.N., and Kannan, A. 2006. CFD studies on natural convection heating of canned food in conical and cylindrical containers. *Journal of Food Engineering*. 77: 1024-1036.

Yang, W. H., and Rao, M. A, 1998 a. Numerical Study of Parameters Affecting Broken Heating Curve. *Journal of Food Engineering*. 37: 43-61.

Yang, W. H., and Rao, M. A. 1998b. Transient Natural Convection Heat Transfer to Starch Dispersion in a Cylindrical Container: Numerical Solution and Experiment. *Journal of Food Engineering*. 36: 395-4 15.



## Numerical Study of Starch Concentration and Filling Initial Temperature on Cold Area changes in Canned Starch-based Food

A. Ranjbar Nedamani<sup>1</sup>, A. M. Ziaifar<sup>\*2</sup>, M. Parvini<sup>3</sup>, M. Kashaninejad<sup>4</sup>, Y. Maghsoudlou<sup>4</sup>

Received: 2015.01.30

Accepted: 2015.07.04

**Introduction:** Canning is the most effective way to food preservation. Starch-based foods include the major food materials such as porridges. These foods due to sensitivity to high shear rates used in rotary retorts and thus texture decomposition, usually sterilized in static retorts. Broken heating behavior, can headspace and initial temperature have important role on heat transfer rate and the position of cold area in these products. Heat breaking phenomena in the thermal curve, which can be seen in foods containing starch, is essentially related to gelatinization and destroying of starchgelstructure. Starchmaybe naturally exist in foods ormay be added to food formulations as an additive to create the consistency, filler, volumeproviders, emulsionstabilizer and etc. However, during thermal processing of foodscontaining high amounts of starch, complexstructural changes occur which leads to viscosity increases. These changes are due to structural changes of starch during gelatinization; such as irreversible swelling of the starch granules, melting of starchcrystals, leaking of starch granule compound. Depending on thetype of starch and its concentration, the final product can be an aqueous solution or a gel structure. Increasing in starch viscosity after gelatinization leads to decrease in heating rate, but with the advancement of heating time, when most granule swelling occurs, and the granules are being disrupted and the viscosity is reduced. This leads to increase the heating rate. This dual behavior of starch dispersion viscosity, leads to break in heating curve. Such solutions are named broken heating curve foods. The aim of this study was numerical simulation of the effect of starch concentration and initial temperature on heat transfer rate of starch dispersion during static sterilization with COMSOL software.

**Materials and methods:** To prepare 100ml of 3.5 and 5% starch dispersion, 3.5 and 5 g starch was dissolved in 96.5 and 95 ml distilled water at 24.7°C, respectively. The solution was then heated at 50°C for 10 min to avoid sedimentation during the heat process. Samples were filled at 50 and 75°C initial temperatures. In each can (9.9×10.1cm), T- type thermocouple was placed in one-third length from the bottom. All measurements were performed in triplicates. The 8-port data logger (Pico-TC08, England) and related software (PicoLog) were used to record the temperature data with 10s intervals. The full filled cans (without headspace) were statically heated in vertical position with no rotation. Numerical solutions of the governing equations were performed by COMSOL Multiphasics 4.2b software. A BDF method for time stepping and Backward Euler to time discretization were used. The system used to run the test and solve the equation was Intel VR Core™ i5CPU M 460 @ 1.70 GHz and 6GB RAM. Numerical simulation of COMSOL software include spairing two physical phenomena: heat transfer and fluidflow. Since the system was cylindrical shaped can contain food with natural convection, non-isothermal laminar flow equations were used. For this problem, one geometry and two domains were defined. The governing equations for non-isothermal laminar flow for domains were defined. Since in thermal diffusion analysis, the formula methods are more correct than empirical methods, formula methods were used in this study for calculating  $j$  and  $f$ . The accuracy of these calculations was evaluated using CFD. Parameter  $-f$  is the slope of heating curve.  $J_h$  index, as a dimensionless correction factor.

**Results and discussion:** The results showed that the cold area is near the one-tenth of cans bottom. In both product initial temperatures, varying the concentration of the starch in product from 3.5 to 5% leads to longer heating time. The increase in the thermal process time at one-tenth of can bottom is more than one-third of can bottom. The time which the dispersion reaches to static temperature also changes with starch concentration in

1, 2 and 4. PhD. student, Associate Professor and Professor, Department of food science, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources.

3 Associate Professor- Faculty of Chemical Engineering, Gas and Petroleum, Semnan University, Semnan.

(\*Corresponding author: ziaifar@gmail.com)

dispersion. The temperature difference in 5% starch dispersion at static temperature at the end of heating process is more considerable than 3.5% starch dispersion. Higher starch concentration induces a decrease in  $f$  (The  $f_h$  coefficient represents the time required to move heating process one cycle in heating curve and it can be calculated from the slope of the linear part of heat curve) at one-third of can bottom while an increase in  $f$  at one-tenth of can bottom. This behavior can be related to the fact that the starch gelatinization takes place earlier in one-third of can bottom than one-tenth due to the faster increase in temperature.

**Keywords:** Broken Heating Food, Sterilization, Cold Area, Heat Penetration, Initial Fill Temperature



## بررسی تاثیر آغازگر لاکتوباسیلوس غالب جدا شده از خمیر ترش سنتی بر میزان بیاتی نان قالبی حاصل از آرد کامل گندم

عباس عابدفر<sup>۱</sup>، علیرضا صادقی<sup>۲\*</sup>، مهدی کاشانی نژاد<sup>۳</sup>، مرتضی خمیری<sup>۳</sup>، مهران اعلمی<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۱/۲۰

### چکیده

در این پژوهش پس از جداسازی آغازگر لاکتوباسیلوس غالب موجود در خمیر ترش سنتی حاصل از آرد کامل گندم و تایید شناسایی آن با استفاده از PCR دارای پرایمر اختصاصی، از آغازگر مذکور جهت تولید خمیر ترش استفاده شد. سپس تاثیر زمان تخمیر (۸، ۱۶، ۲۴ ساعت) و مقدار شکر (۰/۵، ۱، ۱/۵ درصد) بر فعالیت آغازگر لاکتوباسیلوس جدا شده مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از فرآوری نان قالبی با استفاده از تیمارهای خمیر ترش، بیاتی نان‌های تولیدی در یک بازه زمانی چهار روزه (۲، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از پخت) بر اساس شاخص سفتی بافت (به روش بافت‌سنجی) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان تخلخل (به روش پردازش تصویر) و ویژگی‌های حسی نان تازه‌خوری نیز با نمونه شاهد مقایسه شد. نتایج حاصل نشان داد که کمترین و بیشترین میزان سفتی بافت نان پس از ۹۶ ساعت به ترتیب مربوط به نمونه‌های فرآوری شده با خمیر ترش تخمیر شده طی ۲۴ ساعت و دارای ۰/۵ درصد شکر و همچنین خمیر ترش تخمیر شده طی ۸ ساعت و دارای ۱/۵ درصد شکر بود. علاوه بر این، بیشترین مقدار تخلخل نان تازه‌خوری در نمونه حاصل از تخمیر ۲۴ ساعت خمیر ترش و محتوی ۱/۵ درصد شکر و کمترین مقدار آن نیز در نمونه حاصل از ۸ ساعت تخمیر با محتوی ۰/۵ درصد شکر مشاهده گردید. پس از ارزیابی نتایج حاصل از این آزمون‌ها، رابطه بین عوامل موثر بر تخمیر خمیر ترش به منظور بررسی خصوصیات بافتی نان‌های تولیدی بر اساس رفتار ویسکوالاستیک آن‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت.

**واژه‌های کلیدی:** نان خمیر ترشی، بیاتی، تخلخل، آرد کامل گندم، آغازگر لاکتوباسیلوس غالب.

### مقدمه

کاملاً موثری جهت ممانعت از بیاتی نان ارائه نشده و هنوز هم از بیاتی به عنوان یک معضل اساسی در کاهش کیفیت این محصول، نام برده می‌شود (Gray & Bemiller, 2003). تازه نگه داشتن و جلوگیری از بیاتی نان و سایر فرآورده‌های صنایع پخت از اهداف مهم و تخصصی است که از جنبه‌های اقتصادی و تغذیه‌ای از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار می‌باشد (Shahedi, 2002). یکی از راهکارهای ارائه شده جهت کاهش بیاتی نان استفاده از خمیر ترش است (Corsetti et al., 1998; Clarke & Arendt, 2005). خمیر ترش، شامل مخلوطی از آرد (یا اجزاء آن) و آب است که به وسیله مخمرها و باکتری‌های اسید لاکتیک، تخمیر شده باشد (Devuyst & Neysens, 2005; Corsetti & Settanni, 2007). بر اساس فناوری تولید، خمیر ترش‌ها به سه نوع سنتی، صنعتی خشک شده و صنعتی مایع تقسیم می‌گردند که در صنعت، خمیر ترش‌های مایع بسیار مورد توجه قرار گرفتند اما این نوع خمیر ترش‌ها به مرحله اسیدی شدن سریع‌تری نیاز دارند (Devuyst & Neysens, 2005). عمده‌ترین باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از خمیر ترش به جنس

با در نظر گرفتن اهمیت نان در سبد خانوار، افزایش ارزش تغذیه‌ای آن از مهم‌ترین اهداف صنایع نانوايي به شمار می‌آید (Izydorczyk & Dexter, 2008). یکی از معضلات اساسی در کاهش کیفیت این فرآورده، بیاتی است. بیاتی که بر اثر تغییرات فیزیکوشیمیایی در پوسته و مغز نان رخ داده و باعث کاهش پذیرش مصرف‌کنندگان می‌گردد، در کنار فساد میکروبی از مهم‌ترین عوامل کاهش زمان ماندگاری نان محسوب می‌شود (Bechtel et al., 1953; Katina, 2005). وقایع پیچیده‌ای نظیر بلوری شدن نشاسته در بیاتی نان اهمیت دارند و عموماً بیاتی با سفت شدن بافت نان همراه است. علیرغم مطالعات گسترده در حوزه صنعت نانوايي، راهکار

۱، ۲، ۳ - به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، استاد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

(\*) - نویسنده مسئول: Email: Sadeghi.gau@gmail.com

DOI: 10.22067/iftstr.v1395i0.41459

لاکتوباسیلوس تعلق دارند اما جنس‌های پدیوکوکوس، لویکونوستوک و انتروکوکوس نیز گاهی اوقات در خمیرترش حضور دارند. این میکروارگانیسم‌ها، خصوصیات نان از جمله حجم، خصوصیات پوسته، دانه‌بندی و رنگ مغز نان، طعم، آروما و بافت آن را بهبود داده و با جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های مولد فساد باعث افزایش زمان ماندگاری نان می‌شوند (Gobbetti, 1998; Lonner *et al.*, 1986). کنترل شرایط تخمیر (دما، زمان، آغازگر میکروبی و ترکیبات تغذیه‌ای) جهت رسیدن به سطح مناسبی از pH و اسیدیته قابل تیر خمیرترش به منظور بهره‌مندی از آثار مفید آن در فرآوری نان اهمیت دارد (Hammes *et al.*, 2005; Clarke & Arendt, 2005).

اسیدی شدن زیستی یک فرایند کلیدی در تخمیر خمیرترش محسوب می‌شود. با توجه به مطالعات صورت گرفته اسیدی شدن شیمیایی، در طی هر دوره تخمیر تاثیر قابل توجهی در بهبود حجم قرص نان تولیدی نخواهد داشت (Clarke *et al.*, 2002). محصول عمده تخمیر فرآورده‌های غنی از فیبرهای رژیمی توسط خمیرترش نیز اسید آلی است که بر روی اجزای نشاسته و پروتئین آرد تاثیر گذاشته و با کاهش pH سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و پروتاز آرد و تغییر رفتار گلوتن شده و لذا در کاهش بیاتی نان تاثیر دارد (Katina *et al.*, 2004; Arendt *et al.*, 2007). خمیرترش در به تاخیر انداختن بیاتی اصولاً به واسطه بهبود حجم و افزایش نرمی بافت نان می‌باشد. خمیرترش با تنظیم فعالیت آنزیمی آرد، میزان هیدرولیز نشاسته را تغییر داده و در نهایت باعث کاهش بلوری شدن نشاسته و کاهش بیاتی نان می‌گردد (Katina, 2005). برخی از متابولیت‌های تولیدی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک موجود در خمیرترش نظیر پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی و آنزیم‌های پروتئولیتیک و آمیلولیتیک در تاخیر بیاتی نان تولیدی موثر هستند (Korakli *et al.*, 2003; Katina *et al.*, 2006).

Maleki و همکاران (۱۹۸۰) با بررسی تاثیر فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک موجود در خمیرترش دریافتند که این میکروارگانیسم‌ها با افزایش حجم مخصوص نان، سبب کاهش نرخ بیاتی محصول تولیدی می‌شوند. Korakli و همکاران (۲۰۰۳) نیز عملکرد آگزوپلی‌ساکاریدهای تولیدی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک در حین تخمیر خمیرترش که با افزایش میزان جذب آب همراه بود را بررسی نموده و نتیجه گرفتند که این ترکیبات باعث جلوگیری از انتقال رطوبت از مغز به پوسته نان و به تعویق انداختن بیاتی آن می‌گردند. علاوه بر این ترکیبات مذکور، تاثیر قابل توجهی در افزایش حجم و بهبود زمان ماندگاری نان داشتند. Gul و همکاران (۲۰۰۵) نیز تاثیر باکتری‌های اسید لاکتیک را در افزایش زمان ماندگاری نان و به تاخیر انداختن بیاتی آن مطالعه نمودند. بر اساس نتایج این پژوهشگران تمامی باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده عملکرد مشابهی در ممانعت از بیاتی و بهبود ویژگی‌های حسّی نان تولیدی

نداشتند. به نحوی که به ترتیب استفاده از لاکتوباسیلوس آمیلوفیلوس و لاکتوباسیلوس سیکس منجر به بروز بهترین خصوصیات رئولوژیکی و بهترین ویژگی‌های حسّی در نان تولیدی گردید. Katina و همکاران (۲۰۰۶) با ارزیابی عملکرد آنزیم‌های پروتئولیتیک و آمیلولیتیک حاصل از باکتری‌های اسید لاکتیک موجود در خمیرترش دریافتند که ترکیبات مذکور، بیاتی نان را به میزان زیادی به تاخیر می‌اندازند. Vancanneyt و Devuyt (۲۰۰۷) نیز با بررسی تاثیر تخمیر خمیرترش بر روی ویژگی‌های نان گزارش نمودند که به موازات افزایش زمان تخمیر، بهبود حجم، بافت و طعم نان و همچنین ممانعت از فسادهای قارچی و باکتریایی و به تاخیر انداختن بیاتی آن مشهودتر است. Sadeghi و همکاران (۲۰۰۸) نیز به بررسی تاثیر باکتری‌های اسید لاکتیک خمیرترش بر زمان ماندگاری نان بربری پرداختند و دریافتند که در فاصله زمانی ۷۲ ساعت پس از پخت، نان فرآوری شده با باکتری لاکتوباسیلوس پلاتناروم در دمای تخمیر ۳۲ درجه سانتی‌گراد و زمان تخمیر ۲۴ ساعت بیشترین مقدار افزایش حجم و کمترین میزان بیاتی را دارا بود. هدف اصلی از انجام این پژوهش، بررسی تاثیر استفاده از آغازگر لاکتوباسیلوس غالب جدا شده از یک نمونه خمیرترش سنتی و کنترل شرایط موثر بر تخمیر آن نظیر زمان تخمیر (در محدوده ۸ تا ۲۴ ساعت)، غلظت شکر (در محدوده ۰/۵ تا ۱/۵ درصد) و ترکیبات آرد کامل گندم جهت فرآوری نان قالبی و همچنین ارزیابی تاثیر این عوامل بر بیاتی نان تولیدی بود.

## مواد و روش‌ها

### مواد

آرد گندم کامل مورد استفاده در این پژوهش از سازمان غله مشهد بر اساس استانداردهای ملی ایران (۱۳۸۱) تهیه شد. آرد مصرفی با ۹۲ درصد استخراج، دارای ۸/۱۰ درصد رطوبت، ۱۲/۲۵ درصد پروتئین، ۲۶/۴۰ درصد گلوتن مرطوب و ۱/۵۵ درصد خاکستر (بر اساس وزن خشک) بود. این مقادیر بر اساس روش‌های مدون (AOAC, 2010 و AACC, 2010) تعیین گردید. مخمر خشک فعال ساکارومایسس سرویزیه از شرکت ایران ملاس فریمان تهیه شد. محیط کشت‌های مصرفی شامل MRS Broth, MRS Agar و Nutrient Broth نیز از شرکت‌های مرک آلمان و اکومدای آمریکا تهیه شدند. مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش نیز از شرکت مرک آلمان تهیه گردیدند.

### تهیه خمیرترش سنتی از آرد کامل گندم

خمیرترش سنتی با مخلوط نمودن آرد و آب، بدون افزودن آغازگر میکروبی و با تخمیر خود به خودی خمیر تهیه گردید (Devuyt & Neysens, 2005). بدین منظور نسبت‌های ۳۵ تا ۶۵ درصد از آرد

رشد کردند. برای جداسازی سلول‌های تازه میکروبی، زیست توده تولیدی توسط سانتریفوژ (هانبل، Combi 514R، کره جنوبی) با ۵۰۰g در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه از محیط کشت جدا شدند (Dalbello *et al.*, 2007). سپس برای تهیه خمیرترش، نسبت یکسان از آب و آرد با لاکتوباسیلوس غالب جدا شده از خمیرترش سنتی (معادل ۱/۵ درصد وزنی آرد) به همراه ۰/۲۵ درصد وزنی از مخمر نانویی مخلوط گردید و تحت تاثیر زمان‌های مختلف تخمیر (۸، ۱۶، ۲۴ ساعت) و همچنین غلظت‌های متفاوت شکر (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد)، تخمیر شد. دمای تخمیر خمیرترش، معادل دمای بهینه فعالیت لاکتوباسیلوس‌ها (۲۸ درجه سانتی‌گراد) در نظر گرفته شد (Meignen *et al.*, 2001; Diowks & Ambroziak, 2006; ) (Chavan & Jana, 2008).

#### ارزیابی میزان اسیدیته قابل تیترا خمیرترش

برای تعیین اسیدیته قابل تیترا خمیرترش (بر حسب اسید لاکتیک)، معادل ۱۰ گرم از خمیرترش مورد نظر با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر، مخلوط و یکنواخت شد. سپس محلول مذکور توسط NaOH با نرمالیه ۰/۱ تا pH معادل ۸/۵ تیترا شد و اسیدیته بر حسب میلی‌لیتر NaOH مصرفی محاسبه گردید (Katina, 2005).

#### تهیه نان فاقد خمیرترش (شاهد)

برای تهیه نان شاهد از مخلوط آرد، آب و ۱/۵ درصد وزنی از مخمر خشک فعال حاوی ساکارومایسس سرویزیه استفاده شد. میزان آب مورد نیاز معادل ۶۰ درصد و همچنین شرایط مخلوط کردن برای تهیه خمیر نان قالبی حاصل از آرد کامل گندم با استفاده از فارینوگراف (برابندر، انگلستان) تعیین شد. خمیر نان شاهد فاقد خمیرترش بوده و مرحله نخست تخمیر این مخلوط در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه و تخمیر نهایی پس از تقسیم کردن به قطعات ۵۰ گرمی در دمای مشابه به مدت ۹۰ دقیقه صورت پذیرفت. سپس نمونه‌های تولیدی در دمای  $220 \pm 5$  درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه در فر پخت (Leisure، ایتالیا)، پخته شدند (Meignen *et al.*, 2001).

#### تهیه نان با استفاده از خمیرترش‌های تولیدی

برای تهیه نان خمیرترشی، نسبت ۲۵ درصد وزنی از خمیرترش به خمیر مشابه نمونه شاهد افزوده شده و سپس تحت شرایط یکسان تخمیر و پخت با نمونه شاهد، فرآوری گردید. مقدار خمیرترش مذکور قبل از تخمیر نهایی به خمیر افزوده شد. نان تولیدی پس از پخت حدود دو ساعت در شرایط بهداشتی، سرد و برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت (Dalbello *et al.*, 2007; Katina *et al.*, 2007).

کامل گندم با آب، مخلوط شد و در دمای ثابت ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تخمیر گردید. سپس جهت غالب شدن لاکتوباسیلوس موجود در خمیرترش از فرایند مایه‌گیری<sup>۱</sup> استفاده شد. در هر مرحله از مایه‌گیری ۲۵ درصد وزنی از خمیرترش تخمیر شده قبلی با ۷۵ درصد از مخلوط آب و آرد تا چندین مرحله تخمیر گردید. در هر مرحله pH و اسیدیته قابل تیترا خمیرترش نیز اندازه‌گیری شد (Venturi *et al.*, 2013).

#### جداسازی و شناسایی لاکتوباسیلوس غالب موجود در خمیرترش سنتی

پس از تهیه خمیرترش، کشت سطحی آن در محیط کشت اختصاصی MRS Agar جهت شمارش پرگنه‌های غالب و در ادامه کشت خطی پرگنه‌های رشد کرده در محیط کشت مذکور با هدف دستیابی به تک پرگنه‌های خالص انجام شد. سپس با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و مورفولوژی نظیر آزمون کاتالاز و رنگ‌آمیزی گرم، شناسایی اولیه آغازگرهای لاکتوباسیلوس غالب صورت گرفت. در ادامه DNA این پرگنه‌ها، استخراج (بیونیر، AccuPrep K-3032، کره جنوبی) و توسط PCR دارای پرایمر اختصاصی، تکثیر و متعاقباً محصولات PCR، توالی‌یابی (شرکت MWG آلمان) شد (Ferchichi *et al.*, 2007). شرایط واکنش این آزمون و پرایمرهای مورد استفاده در جدول (۱) آمده است.

واکنش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر، شامل یک واحد بافر استاندارد PCR، ۲۵ پیکامول از هر پرایمر، مخلوطی از هر dNTP با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار، ۲۵ میکروگرم سرم آلبومین، Taq پلیمرز با فعالیت ۲/۵ واحد (روبوست، فرانسه) و ۲ میکرولیتر DNA با غلظت ۱۰۰ نانوگرم انجام شد. سپس در مرحله اول تکثیر، واسرشت DNA با شروع داغ در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، آغاز گشته و طی ۳۵ چرخه با برنامه حرارتی ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه و ۶۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه ادامه یافت. سرانجام مرحله تکثیر انتهایی نیز به مدت ۷ دقیقه در دمای ۶۸ درجه سانتی‌گراد (ترموسایکلر کوربت، مدل CG1-96، استرالیا) خاتمه پیدا کرد (Ferchichi *et al.*, 2007).

#### تهیه خمیرترش طی تخمیرکنترل شده با استفاده از کشت آغازگر اختصاصی

برای تهیه خمیرترش کنترل شده، ابتدا گونه لاکتوباسیلوس غالب جدا شده در محیط کشت MRS Broth در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شد. لاکتوباسیل‌ها تا ایجاد  $10^8$  واحد تشکیل‌دهنده پرگنه در گرم (در مقایسه با لوله ۰/۵ مک فارلند)

<sup>۱</sup> Refreshing

## ارزیابی سفتی بافت مغز نان با استفاده از دستگاه بافت‌سنج به‌عنوان معیاری از بیاتی

بدین منظور ابتدا قطعات مستطیلی شکل با ضخامت  $2 \pm 0.2$  میلی‌متر از مرکز هندسی نان بریده شد. سپس با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (مدل TAXT Plus Stable Micro System، انگلستان)، نیروی لازم جهت ایجاد ۵۰ درصد فشردگی در ضخامت اولیه به عنوان سفتی بافت مغز نان اندازه‌گیری گردید. سرعت پروب مورد استفاده در آزمون تراکمی ۱ میلی‌متر در ثانیه و نقطه شروع ۵۰ گرم

بود. برای هر نمونه نان، آزمون مذکور با سه تکرار در دمای اتاق انجام شد. حداکثر نیروی لازم برای نفوذ پروب در نمونه، به‌عنوان سفتی پوخته نان در نظر گرفته شد. با رسم منحنی نیرو-فاصله، نیروی متناظر با نصف ضخامت نمونه به‌عنوان نیروی لازم برای پنجاه درصد فشردگی که بیانگر سفتی مغز نان است تعیین گردید. در نهایت سفتی بافت مغز نان در تناوب‌های زمانی ۲، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از پخت برای تخمین بیاتی مغز نان مورد ارزیابی قرار گرفت (Corsetti *et al.*, 1998; Katina *et al.*, 2007).

جدول ۱- پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده برای آزمون PCR شناسایی سویه‌های لاکتوباسیلوس

| میزان اختصاصیت پرایمر  | ۳' به ۵' توالی پرایمر                          | طول توالی هدف | مرجع                           |
|------------------------|------------------------------------------------|---------------|--------------------------------|
| باکتری‌های اسید لاکتیک | F: GAACGCGAAGAACCCTTAC<br>R: GCGTGTGTACAAGACCC | ۵۰۰ جفت باز   | Ferchichi <i>et al.</i> , 2007 |

## اندازه‌گیری میزان تخلخل مغز نان

برای ارزیابی میزان تخلخل مغز نان در فاصله زمانی ۲ ساعت پس از پخت، از تکنیک پردازش تصویر استفاده شد. بدین منظور برشی به ابعاد ۲ در ۲ سانتی‌متر از مغز نان تهیه گردید و به‌وسیله اسکنر (مدل Merryking-Dv, 2455، چین) با وضوح ۳۰۰ پیکسل، تصویر برداری شد. سپس تصویر تهیه شده در اختیار نرم افزار Image J قرار گرفت. در ادامه با فعال کردن قسمت ۸ بیت، تصاویر با سطح خاکستری ایجاد شد و برای تبدیل تصاویر خاکستری به تصاویر دودی، قسمت دودی نرم‌افزار فعال گردید. تصاویر موجود در این نرم افزار، مجموعه‌ای از نقاط روشن و تاریک است که با محاسبه نسبت نقاط روشن به تاریک به‌عنوان شاخصی از میزان تخلخل در نمونه‌ها برآورد می‌گردد. بدیهی است که هر چقدر این نسبت بیشتر باشد میزان حفرات موجود در بافت نان (میزان تخلخل) بیشتر بوده و با فعال کردن قسمت Analysis نرم‌افزار می‌توان این نسبت را محاسبه و درصد تخلخل نمونه‌ها را اندازه‌گیری نمود (Haralick *et al.*, 1973).

## ارزیابی خصوصیات حسی نان‌های تولیدی

خصوصیات حسی نان‌های تولیدی در فاصله زمانی ۲ ساعت پس از پخت، از طریق آزمون چشایی بر اساس روش (AOAC, 2003) ارزیابی شد. ده داور از بین افراد آموزش دیده، خصوصیات نان‌های تولیدی را جهت تعیین میزان پذیرش کلی، رنگ پوخته نان، قابلیت جویدن، سفتی بافت، طعم اسیدی، تخلخل و خاصیت ارتجاعی بر مبنای مقیاس ۵-۱ (کمترین و ۵ بالاترین امتیاز) ارزیابی کردند و در نهایت با اعمال ضریب ارزشیابی برای هر صفت، پذیرش کلی کیفیت نان با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید (Katina *et al.*, 2006).

$$Q = \text{پذیرش کلی (عدد کیفیت نان)}, P = \text{ضریب رتبه صفات و} \\ G = \text{ضریب ارزیابی صفات.} \quad (1)$$

## تعیین میزان آلودگی میکروبی

برای ارزیابی آلودگی میکروبی ابتدا از قسمت‌های مختلف بهترین نان‌های تولیدی، نمونه‌برداری شده و در هاون چینی استریل، همگن گردید. سپس از نمونه مذکور، رقت‌های مختلف تا  $10^{-5}$  تهیه شد. در ادامه از محیط کشت PCA<sup>۲</sup> برای شمارش کلی و PDA<sup>۳</sup> برای شمارش کپک و مخمر استفاده گردید. پلیت‌های کشت شده به‌ترتیب در دماهای ۳۷ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت، با شمارش مستقیم کلنی‌ها، نتایج به‌صورت Log cfu/g گزارش گردید.

## تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نتایج حاصل از این پژوهش بر اساس طرح آماری پایه کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل، در سه تکرار و با استفاده از نرم‌افزارهای SAS (نسخه ۹.۱)، SPSS (نسخه ۱۶)، Microsoft Office Excel (نسخه ۲۰۱۳)، Curve Expert، Design Expert، Sigma plot، تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حناقل اختلاف معنی‌داری (LSD) و آزمون دانکن در سطح ۹۵٪ انجام شد.

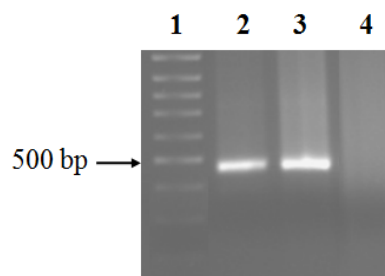
۲. Plate Count Agar

۳. Potato Dextrose Agar

## نتایج و بحث

### شناسایی آغازگر لاکتوباسیلوس غالب جدا شده از خمیر ترش سنتی

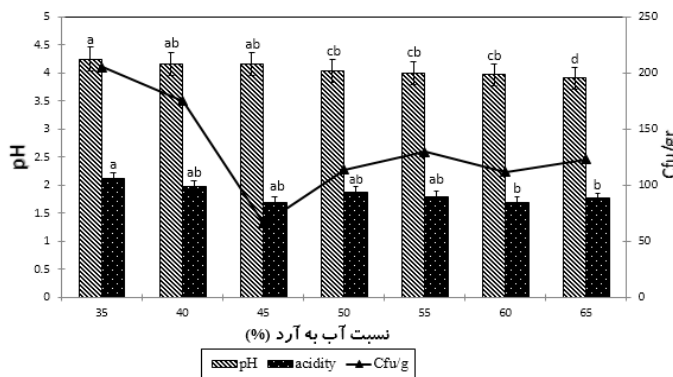
ارزیابی اولیه تکثیر DNA تک پرگنه‌های حاصل از کشت خطی سوسپانسیون میکروبی خمیر ترش سنتی با ژل الکتروفورز محصولات تولیدی، تایید گردید (شکل ۱).



شکل ۱- ژل الکتروفورز محصولات PCR دارای پرایمر اختصاصی با توالی هدف ۵۰۰ جفت بازی جهت شناسایی پرگنه لاکتوباسیلوس-های غالب موجود در سوسپانسیون میکروبی خمیر ترش سنتی (لاین ۲) در مجاورت مارکر صد جفت بازی (لاین ۱) و همچنین نمونه‌های کنترل مثبت حاوی DNA حاصل از کشت خالص *Lactobacillus* spp. (لاین ۳) و کنترل منفی یا فاقد باکتری (لاین ۴).

### تغییرات اسیدیته قابل تیتتر خمیر ترش در تخمیر کنترل نشده

روند تغییرات اسیدیته قابل تیتتر، تعداد واحد تشکیل دهنده پرگنه در خمیر ترش حاصل از تخمیر کنترل نشده در شکل ۲ نشان داده شده است. آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین تغییرات اسیدیته قابل تیتتر و pH خمیر ترش حاصل از آرد کامل گندم در طی تخمیر کنترل نشده، در یک بازه زمانی و دمایی ثابت (یک شبانه‌روز در دمای محیط) در سطح ۹۵ درصد نشان داد که در نسبت‌های مختلف آب به آرد، تغییرات اسیدیته و pH از روند مشخصی تبعیت نکرده و رابطه معنی‌داری ( $P > 0.05$ ) بین نسبت آب به آرد با میزان اسیدیته و pH وجود ندارد. بیشترین و کمترین مقادیر اسیدیته قابل تیتتر در تخمیر کنترل نشده نیز مربوط به نسبت‌های ۳۵ و ۶۰ درصد آب به آرد بود. بر اساس گزارش Reale و همکاران (۲۰۰۵)، با افزایش نسبت آب به آرد، تغییرات اسیدیته از روند مشخصی تبعیت نمی‌کند.



شکل ۲- بررسی تغییرات اسیدیته قابل تیتتر، pH و تعداد واحد تشکیل‌دهنده پرگنه برگرم از باکتری‌های اسید لاکتیک در تخمیر کنترل نشده خمیر ترش حاصل از نسبت‌های مختلف آب و آرد (حروف نامشابه، نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح  $\alpha = 0.05$  می‌باشد).

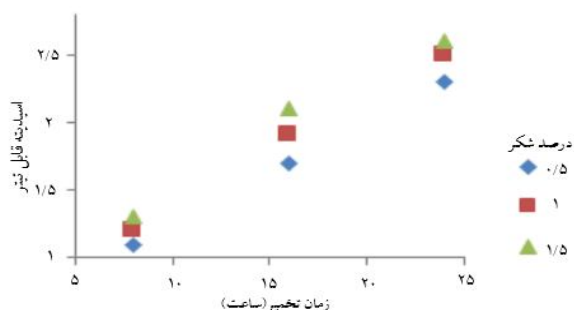
ثابت تخمیر (۲۸ درجه سانتی‌گراد) با تلقیح لاکتوباسیلوس غالب جدا شده از تخمیر کنترل نشده، اسیدیته قابل تیتتر در تخمیر کنترل شده با روند مشخصی افزایش یافت، در مقایسه با تخمیر کنترل نشده، آنالیز واریانس و مقایسه میانگین تغییرات اسیدیته در سطح ۵ درصد نشان داد که در یک نسبت ثابت آب به آرد، سطوح مختلف زمان تخمیر و درصد شکر تاثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بر میزان تغییرات اسیدیته قابل

### تغییرات اسیدیته قابل تیتتر خمیر ترش حاصل از تخمیر کنترل شده

روند تغییرات اسیدیته قابل تیتتر خمیر ترش به‌عنوان تابعی از زمان تخمیر و غلظت شکر در تخمیر کنترل شده در شکل (۳) نشان داده شده است. بر این اساس با افزایش زمان تخمیر در محدوده ۸ تا ۲۴ ساعت و افزایش غلظت شکر در محدوده ۰/۵ تا ۱/۵ درصد در دمای

Katina (۲۰۰۵) نتایج مشابهی گزارش کرده‌اند. براساس گزارش این محققان، به موازات افزایش زمان تخمیر، اسیدیته قابل تیتر خمیرترش افزایش می‌یابد. همچنین Birkhed و Fuchs (۱۹۷۵) و Brandt و Hammes (۲۰۰۱) گزارش نمودند که با افزایش درصد شکر، اسیدیته قابل تیتر خمیرترش نیز افزایش می‌یابد.

تیتر خمیرترش دارند. بیشترین مقدار اسیدیته قابل تیتر در تخمیر کنترل شده در نمونه حاصل از ۲۴ ساعت تخمیر و محتوی ۱/۵ درصد شکر و کمترین مقدار آن نیز در نمونه حاصل از ۸ ساعت تخمیر با محتوی ۰/۵ درصد شکر مشاهده گردید. محققین مختلفی نظیر Gul و همکاران (۲۰۰۵)، Meignen و همکاران (۲۰۰۱) و همچنین

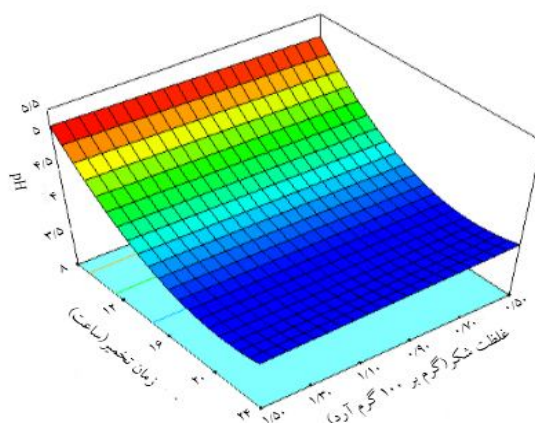


شکل ۳- بررسی تغییرات اسیدیته قابل تیتر خمیرترش بر حسب اسید لاکتیک تحت تاثیر زمان تخمیر و غلظت شکر.

نسبت ثابت آب به آرد، زمان تخمیر و درصد شکر، تاثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بر میزان تغییرات pH دارند به نحوی که بیشترین و کمترین مقدار pH در تخمیر کنترل شده به ترتیب در نمونه حاصل از ۸ ساعت تخمیر و محتوی ۰/۵ درصد شکر و همچنین نمونه حاصل از ۲۴ ساعت تخمیر با محتوی ۱/۵ درصد شکر مشاهده گردید. این نتایج با یافته‌های Meignen و همکاران (۲۰۰۱) و Katina (۲۰۰۵)، همخوانی دارد. بر این اساس، در شرایطی که با افزایش زمان تخمیر، pH کاهش می‌یابد معمولاً حضور لاکتوباسیلوس‌های هموفرم‌نتاتیو محتمل‌تر است.

#### تغییرات pH خمیرترش حاصل از آرد کامل گندم در تخمیر کنترل شده

روند تغییرات pH خمیرترش به عنوان تابعی از زمان تخمیر و غلظت شکر در شرایط تخمیر کنترل شده در شکل (۴) نشان داده شده است. با افزایش زمان تخمیر در محدوده ۸ تا ۲۴ ساعت و همچنین افزایش غلظت شکر در محدوده ۰/۵ تا ۱/۵ درصد، در دمای ثابت تخمیر (۲۸ درجه سانتی‌گراد) با تلقیح لاکتوباسیلوس غالب جدا شده از تخمیر کنترل نشده، pH خمیرترش حاصل از آرد کامل گندم در تخمیر کنترل شده با روند مشخصی کاهش یافت. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین تغییرات pH در سطح ۵ درصد نشان داد که در یک



شکل ۴- بررسی تغییرات pH خمیرترش تحت تاثیر زمان تخمیر و غلظت شکر.

## ارزیابی سفتی بافت نان

جدول (۲) نتایج حاصل از آزمون اندازه گیری سفتی مغز نان با دستگاه بافت سنج در نان های تهیه شده از تیمارهای متفاوت خمیر ترش حاصل از تخمیر کنترل شده در طی دوره نگهداری را نشان می دهد. همان طور که ملاحظه می شود نیروی لازم برای فشردن نان با گذشت زمان افزایش می یابد. در بین نمونه های تولیدی، کمترین سفتی بافت در نمونه فرآوری شده طی ۲۴ ساعت تخمیر و غلظت ۰/۵ درصد شکر مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان سفتی بافت در مقایسه با نمونه شاهد مربوط به نمونه فرآوری شده طی ۸ ساعت تخمیر و غلظت ۱/۵ درصد شکر پس از ۹۶ ساعت نگهداری بود. بر این اساس، عوامل موثر بر تخمیر خمیر ترش (زمان و مقدار شکر) تاثیر بسزایی بر سفتی بافت نان تولیدی داشتند که تاکید بر نقش متابولیت های میکروبی تولید شده در شرایط مذکور بود. آنالیز واریانس

و مقایسه میانگین تغییرات سفتی بافت نان در سطح ۵ درصد نیز تاثیر شرایط اعمال شده در این پژوهش را بر میزان تغییرات سفتی بافت نان مشخص نمود. با توجه به تحقیقات Hoseney و Martin (۱۹۹۱) در حین پخت پس از متورم شدن نشاسته، پیوندهای عرضی بین نشاسته و گلوتن تشکیل گردیده که در طی نگهداری نان و به دنبال کاهش انرژی جنبشی به تغییرات فیزیکی شیمیایی و سفتی مغز نان منجر می گردد. بیاتی نان فرآیند پیچیده ای است که آن را به برگشت به عقب نشاسته نسبت می دهند (Ribotta et al., 2004). همچنین Barber و همکاران (۱۹۹۲)، تولید اسیدهای آلی و هیدرولیز نشاسته به وسیله باکتری ها و Gobetti و همکاران (۱۹۹۶)، پروتئولیز زیر واحدهای گلوتن را نیز از جمله عوامل موثر در بیاتی نان بر شمرده اند.

جدول ۲- بررسی تغییرات سفتی بافت نان تحت تاثیر زمان تخمیر و مقدار شکر خمیر ترش در طی زمان نگهداری

| مدت زمان ماندگاری | درصد شکر | زمان تخمیر               | ۲ ساعت                    | ۴۸ ساعت                  | ۹۶ ساعت |
|-------------------|----------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------|
| ۰/۵               | ۰        | ۹/۸۵۰±۱/۶۴ <sup>b</sup>  | ۱۱/۳۹۰±۱/۶۴ <sup>bc</sup> | ۱۲/۹۴۰±۱/۶۴ <sup>c</sup> |         |
|                   | ۸        | ۸/۵۹۳±۲/۲۳ <sup>bc</sup> | ۱۲/۵۶۰±۲/۲۳ <sup>b</sup>  | ۲۳/۱۴۰±۲/۲۳ <sup>a</sup> |         |
|                   | ۱۶       | ۳/۳۶۲±۰/۵۳ <sup>d</sup>  | ۵/۲۹۸±۰/۵۳ <sup>c</sup>   | ۷/۱۷۵±۰/۵۳ <sup>f</sup>  |         |
|                   | ۲۴       | ۳/۳۳۹±۱/۰۹ <sup>d</sup>  | ۷/۶۷۹±۱/۰۹ <sup>d</sup>   | ۱۰/۸۶۰±۱/۰۹ <sup>e</sup> |         |
| ۱                 | ۰        | ۹/۸۰۱±۱/۶۴ <sup>b</sup>  | ۱۱/۳۰۴±۱/۶۴ <sup>bc</sup> | ۱۲/۸۷۰±۱/۶۴ <sup>e</sup> |         |
|                   | ۸        | ۷/۶۱۳±۱/۱۱ <sup>c</sup>  | ۱۴/۶۸۴±۱/۱۱ <sup>a</sup>  | ۱۲/۶۸۰±۱/۱۱ <sup>d</sup> |         |
|                   | ۱۶       | ۱۱/۷۳۴±۱/۰۵ <sup>a</sup> | ۱۰/۱۵۰±۱/۰۵ <sup>c</sup>  | ۱۶/۷۹۰±۱/۰۵ <sup>b</sup> |         |
|                   | ۲۴       | ۳/۷۱۷±۰/۹۷ <sup>d</sup>  | ۸/۳۳۰±۰/۹۷ <sup>d</sup>   | ۱۰/۲۲۰±۰/۹۷ <sup>c</sup> |         |
| ۱/۵               | ۰        | ۹/۷۸۰±۱/۶۴ <sup>b</sup>  | ۱۱/۲۸۰±۱/۶۴ <sup>bc</sup> | ۱۲/۹۹۰±۱/۶۴ <sup>a</sup> |         |
|                   | ۸        | ۱۲/۲۰۴±۱/۸۸ <sup>a</sup> | ۱۴/۷۸۰±۱/۸۸ <sup>a</sup>  | ۲۴/۳۲۰±۱/۸۸ <sup>a</sup> |         |
|                   | ۱۶       | ۴/۳۱۶±۰/۸۵ <sup>d</sup>  | ۵/۸۵۱±۰/۸۵ <sup>c</sup>   | ۹/۷۵۳±۰/۸۵ <sup>e</sup>  |         |
|                   | ۲۴       | ۷/۰۰۶±۱/۲۸ <sup>c</sup>  | ۸/۰۵۵±۱/۲۸ <sup>d</sup>   | ۱۴/۹۴۳±۱/۲۸ <sup>c</sup> |         |

(حروف غیر یکسان، نشانگر تفاوت معنی دار در سطح  $\alpha = 0/05$  می باشد)

نتایج حاصل از آزمون اندازه گیری سفتی بافت نان با دستگاه بافت سنج در نان های تهیه شده از تیمارهای متفاوت و در طی دوره ۲ ساعت نگهداری نشان داد که نیروی لازم برای فشردن نان در نمونه های تهیه شده از خمیر ترش در زمان های تخمیر کوتاه تر، به مراتب بیشتر است که با نتایج Katina و همکاران (۲۰۰۶) نیز همخوانی داشت. احتمالاً در این بازه زمانی هنوز تخمیر آغازگر انتخابی، کامل نشده و لذا متابولیت های میکروبی اثر مشهودی بر سفتی بافت نان تولیدی نداشتند. همچنین بافت نان های حاصل از تیمارهای ۱۶ و ۲۴ ساعت تخمیر در طی دوره ۴۸ ساعت نگهداری با گذشت زمان، سفتی کمتری نسبت به نمونه شاهد از خود نشان دادند. به نظر می رسد که شرایط تخمیر مذکور، مناسب ترین شرایط برای تولید متابولیت های

میکروبی نظیر پلی ساکاریدهای خارج سلولی و یا آنزیم هایی باشد که باعث نرمی بافت نان می شوند. Corsetti و همکاران (۱۹۹۸)، Lacaze و همکاران (۲۰۰۷) و Arendt و همکاران (۲۰۰۷) نیز نتایج مشابهی به دست آورده اند. در پژوهش های مذکور به دنبال افزایش زمان تخمیر خصوصاً در کشت های آغازگر حاوی گونه های لاکتوباسیل هموفرمنتاتیو، سفتی بافت نان تولیدی به مراتب نسبت به نمونه شاهد کمتر بود. البته در کشت های آغازگر حاوی گونه های لاکتوباسیل هتروفرمنتاتیو به دلیل تغییر در تولید متابولیت های اصلی و افزایش تولید ترکیبات فرار در مورد گونه های مختلف، نتایج متفاوتی مشاهده شده است (Thiele et al., 2002).

دارای تاثیر متفاوتی در به تاخیر انداختن بیاتی نان هستند (Corsetti *et al.*, 1998). در خصوص تاثیر زمان تخمیر خمیرترش بر سفتی بافت نان در طی نگهداری Corsetti و همکاران (۱۹۹۸) و همچنین Katina (۲۰۰۵) نتایج مشابهی بدست آورده‌اند. بر این اساس، خمیرترش با تنظیم فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز آرد، میزان هیدرولیز نشاسته را تغییر داده و در کاهش بلوری شدن نشاسته و کاهش بیاتی نان موثر است (Clarke *et al.*, 2004).

### ارزیابی میزان تخلخل مغز نان

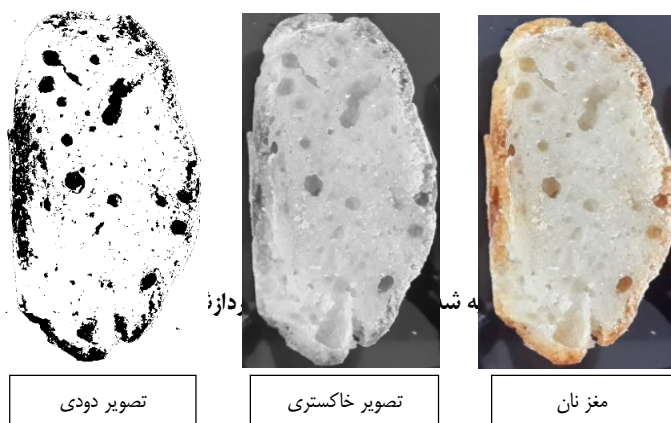
آنالیز واریانس و مقایسه میانگین تغییرات تخلخل مغز نان در سطح ۵ درصد نشان داد که در محدوده شرایط اعمال شده در این پژوهش، زمان تخمیر و درصد شکر تاثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بر میزان تخلخل بافت نان تولیدی ۲ ساعت پس از پخت دارند. بیشترین مقدار تخلخل بافت نان در نمونه حاصل از ۲۴ ساعت تخمیر و محتوی ۱/۵ درصد شکر و کمترین مقدار آن نیز در نمونه حاصل از ۸ ساعت تخمیر با محتوی ۰/۵ درصد شکر مشاهده گردید. نتایج تجزیه واریانس و تغییرات تخلخل مغز نان تحت تاثیر تیمارهای زمان تخمیر و غلظت شکر در جدول (۳) آمده است.

بررسی روند تغییرات سفتی بافت نان در طول زمان انبارمانی نشان داد که سفتی بافت اکثر نمونه‌ها از نمونه شاهد کمتر بود. این روند در نمونه حاصل از ۸ ساعت تخمیر مشاهده نشد که دلیل اصلی آن را می‌توان به تخمیر ناقص و عدم تولید متابولیت‌های میکروبی در طی تخمیر نسبت داد (Corsetti *et al.*, 1998). Crowely و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی عملکرد متابولیت‌های میکروبی تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک در حین تخمیر خمیرترش دریافتند که این ترکیبات، مانع انتقال رطوبت از مغز به پوسته نان و به تعویق انداختن بیاتی آن می‌گردند. علاوه بر این، ترکیبات مذکور تاثیر قابل توجهی در افزایش حجم، کاهش سفتی بافت و بهبود زمان ماندگاری نان داشتند. همچنین Siljestrom و همکاران (۱۹۸۸) گزارش کردند که خمیرترش از طریق تاثیر بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز آرد باعث کاهش هیدرولیز نشاسته و آزاد شدن محدود دکسترین‌های دارای وزن مولکولی پایین می‌شوند. دکسترین‌ها تمایل کمتری به برگشت به عقب دارند. بطور کلی در مقادیر اسیدی شدن پائین‌تر و زمان تخمیر طولانی‌تر، هیدرولیز نشاسته در نان حاصل از خمیرترش بیشتر از نان تهیه شده با مخمر نانوائی بوده و لذا بافت نرم‌تری حاصل می‌گردد. البته سویه باکتری مورد استفاده نیز حائز اهمیت است به نحوی که آغازگرهای مختلف از بین باکتری‌های اسید لاکتیک،

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس و تغییرات تخلخل مغز نان تحت تاثیر تیمارهای زمان تخمیر و غلظت شکر

| درصد شکر | زمان تخمیر | تخلخل مغز نان          |
|----------|------------|------------------------|
| ۰        | ۰          | $0.085 \pm 0.031^a$    |
|          | ۷          | $0.038 \pm 0.009^c$    |
| ۰/۵      | ۱۶         | $0.090 \pm 0.013^a$    |
|          | ۲۴         | $0.094 \pm 0.012^a$    |
|          | ۸          | $0.047 \pm 0.009^{bc}$ |
| ۱        | ۱۶         | $0.098 \pm 0.027^a$    |
|          | ۲۴         | $0.102 \pm 0.005^a$    |
|          | ۸          | $0.048 \pm 0.004^{bc}$ |
| ۱/۵      | ۱۶         | $0.080 \pm 0.026^b$    |
|          | ۲۴         | $0.127 \pm 0.003^a$    |

(حروف غیر یکسان، نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح  $\alpha = 0.05$  می‌باشد)

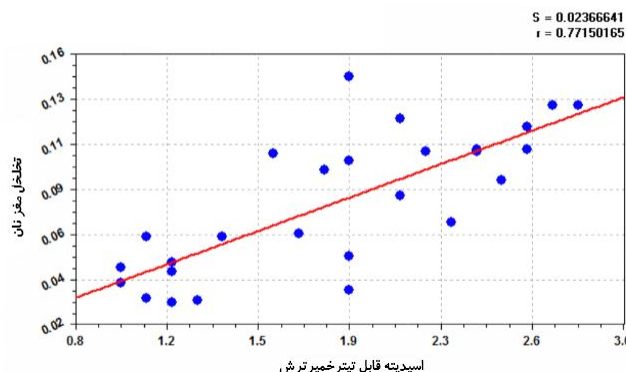


اسیدیته قابل تیتراژ در تخمیرکنترل شده در شکل (۶) نشان داده شده است. رابطه رگرسیونی با ضریب همبستگی  $0.771$  بین اسیدیته قابل تیتراژ خمیرترش و تخلخل مغز نان نشان داد که با افزایش میزان اسیدیته قابل تیتراژ خمیرترش، تخلخل مغز نان افزایش می‌یابد. براساس تحقیقات صورت گرفته مهم‌ترین دلیل کاهش بیاتی نان فرآوری شده با خمیرترش، تولید متابولیت‌هایی نظیر اسیدهای آلی می‌باشد که سبب افزایش تخلخل، تغییر در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و افزایش نرمی بافت نان می‌گردد. استفاده از غلظت بالاتر شکر، دمای بالاتر تخمیر، افزودن مقدار آب بیشتر در خمیرترش و استفاده از آرد کامل می‌تواند تولید اسید را در حین تخمیر خمیرترش افزایش دهد (Katina et al., 2007; Arendt et al., 2007).

رابطه ساختار مغز نان و بسیاری از ویژگی‌های کیفی آن نظیر تخلخل نشان داده است که خواص مکانیکی مغز نان بیشتر تابع چگونگی توزیع اجزا بوده و وابستگی کمتری به اندازه اجزا دارد. نتایج تحقیقات اخیر نشان داده است که از بین عوامل موثر بر تخلخل نان، تولید گاز در حین فرایندهای تخمیری از اهمیت بیشتری در مقایسه با روش‌های فرآوری یا مخلوط کردن اجزای خمیر برخوردار است (Shehzad et al., 2010).

### بررسی رابطه اسیدیته قابل تیتراژ خمیرترش با تخلخل و سفتی بافت نان

رابطه رگرسیونی تغییرات تخلخل بافت نان به‌عنوان تابعی از



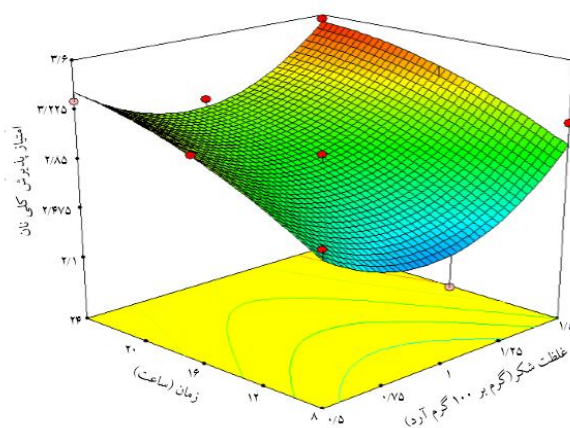
شکل ۶- رابطه رگرسیونی اسیدیته قابل تیتراژ خمیرترش برحسب اسید لاکتیک با تخلخل مغز نان.

سطوح مختلف زمان تخمیر و درصد شکر تاثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بر میزان پذیرش نهایی نان‌های تازه‌خوری داشتند. میزان پذیرش نهایی نمونه‌های تولیدی با افزایش زمان تخمیر بهبود یافت به‌نحوی که نمونه حاصل از ۲۴ ساعت تخمیر و محتوی  $1/5$  درصد شکر، بالاترین نمره پذیرش نهایی را بدست آورد. کمترین مقدار پذیرش نهایی نیز در نمونه حاصل از ۸ ساعت تخمیر با محتوی یک درصد شکر مشاهده شد که در مقایسه با نمونه شاهد باز هم به مراتب بالاتر بود. دلیل این موضوع به افزایش تخلخل، بهبود احساس دهانی و تولید ترکیبات مولد عطر و طعم با گذشت زمان تخمیر نسبت داده می‌شود (Katina et al., 2006; Thiele et al., 2002).

همچنین رابطه رگرسیونی با ضریب همبستگی  $0.623$  بین سفتی بافت نان و اسیدیته قابل تیتراژ خمیرترش نشان داد که با افزایش میزان اسیدیته قابل تیتراژ خمیرترش، سفتی بافت نان کاهش می‌یابد. دلیل اصلی این پدیده، تولید متابولیت‌های میکروبی توسط باکتری-های اسید لاکتیک در حین تخمیر خمیرترش است که تاثیر قابل توجهی در افزایش حجم و کاهش سفتی بافت نان دارند (Crowely et al., 2003; Gomez et al., 2007).

### ارزیابی خصوصیات حسی نان‌های تولیدی

روند پذیرش نهایی نان‌های تازه‌خوری به عنوان تابعی از زمان تخمیر و غلظت شکر در شرایط تخمیرکنترل شده در شکل (۷) نشان داده شده است. براساس نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری،



شکل ۷- بررسی امتیاز پذیرش کلی نان‌های تولیدی تحت تاثیر زمان تخمیر و غلظت شکر

### نتیجه‌گیری

اسید حاصل از تخمیر خمیرترش بر اجزای نشاسته و پروتئین آرد، تاثیر گذاشته و سبب افزایش تخلل و نرمی بافت نان خمیرترشی می‌شود. از سوی دیگر خمیرترش با تنظیم فعالیت آنزیمی آرد، در نهایت باعث کاهش بلوری شدن نشاسته و کاهش بیاتی نان می‌گردد. با توجه به تغییرات معنی‌دار اسیدیته قابل تیتراژ در تخمیرهای کنترل شده خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیل غالب جدا شده از خمیرترش سنتی با مقادیر مذکور در تخمیرهای کنترل نشده در این پژوهش می‌توان دریافت که آغازگر میکروبی مورد استفاده در کنار سایر عوامل موثر بر تخمیر خمیرترش نظیر زمان و ترکیبات سوبسترا، نقش غیرقابل انکاری در کنترل این تخمیر پیچیده دارد. از سوی دیگر و با در نظر گرفتن رابطه رگرسیونی بین اسیدیته قابل تیتراژ خمیرترش با مقادیر سفتی بافت و میزان تخلل به‌عنوان معیارهای بیاتی نان تولیدی، اهمیت فرایند تخمیر در کنترل بیاتی نان نیز محرز می‌شود.

### تعیین میزان آلودگی میکروبی بهترین نمونه نان تولیدی

نتایج حاصل از کشت میکروبی نان حاصل از ۲۴ ساعت تخمیر و محتوی ۰/۵ درصد شکر (بهترین نان خمیرترشی به لحاظ تاخیر بیاتی) در مقایسه با نمونه شاهد پس از ۹۶ ساعت نگهداری دارای اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۴). تولید اسید مهم‌ترین عامل موثر خمیرترش در جلوگیری از فساد قارچی و باکتریایی به‌شمار می‌آید اگرچه اثر ضد میکروبی لاکتوباسیلوس‌های موجود در خمیرترش، حاصل ترکیبی از تولید اسید لاکتیک، pH پایین و مواد دارای خاصیت ضد میکروبی است (Simsek et al., 2006).

جدول ۴- مقایسه میزان آلودگی میکروبی در فاصله زمانی ۴ روز پس از پخت در بهترین نان خمیرترشی با نمونه شاهد

| ردیف             | بهترین نان (cfu/g)  | نمونه شاهد (cfu/g)  |
|------------------|---------------------|---------------------|
| شمارش کلی        | $1/1 \times 10^2$ a | $3/4 \times 10^2$ b |
| شمارش کپک و مخمر | $0/9 \times 10^2$ a | $2/9 \times 10^2$ b |

### منابع

- AACC International. 2010. AACC methods 46-30. Approved methods of the American association of cereal chemists. 11th Ed. The St. Paul.
- AOAC Method. 2003. in official methods of analysis. Association of official analytical chemists. 17th Ed. Arlington. Virginia.
- Arendt, E.K., Ryan, L.A.M. and Dal Bello, F. 2007. Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology*. 24, 165-174.
- Barber, B., Ortola, C., Barber, S., and Fernandez, F. 1992. Storage of packaged white bread. III. Effect of sourdough and addition of acids on bread characteristics. *ZLebensm Unters Forsch*. 194, 442-449.
- Bechtel, W.G., Meisner, D.F., and Bradley, W.B. 1953. The effect of crust on the staling of bread. *Cereal Chemistry*. 30, 160-168.
- Birkhed, D., and Fuchs, G. 1975. Influence of sugar content in soft bread on pH of human dental plaque. *Acta Odont*. 33, 59-66.
- Brandt, M.J., and Hammes, W.P. 2001. Einfluß von Fructosanen auf die Sauerteig fermentation. *Getreide, Mehl und Brot*. 55, 341-345.
- Clarke, C.I., and Arendt, E.K. 2005. A review of the application of sourdough technology to wheat breads. *Advance in*

- Food and Nutrition Research*. 49, 137-156.
- Clarke, C.I., Schober, T.J., Dockery, P., O'Sullivan, K., and Arendt, E.K. 2004. Wheat sourdough fermentation: effects of time and acidification on fundamental rheological properties. *Cereal Chemistry*. 81, 409-417.
- Clarke, C.I., Schober, T.J. and Arendt, E.K. 2002. Effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures on rheological properties of wheat dough and on bread quality. *Cereal Chemistry*. 79, 640-647.
- Corsetti, A., Gobbetti, M., Balestrieri, F., Paoletti, F., Russi, L., and Rossi, J. 1998. Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling. *Journal of Food Science and Technology*. 63, 347-351.
- Corsetti, A., and Settanni, L. 2007. Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Research International*. 40, 539-558.
- Crowely, P., Schober, T.J., Clark, C.I., and Arendt, E.K. 2003. The effect of storage time on textural and crumb grain characteristics of sourdough wheat bread. *European Food Research Technology*. 214, 489-496.
- Chavan, R.S., and Jana, A. 2008. Frozen dough for bread making a review. *International Journal of Food Science and Technology*. 2, 9-27.
- Dalbello, F., Clarke, C.I., Ryan, L.A.M., Ulmer, H., Schober, T.J., Strom, K., Sjogren, J., van Sinderen, D., Schnurer, J. and Arendt, E.K. 2007. Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. *Journal of Cereal Science*. 45, 309-318.
- Devuyst, L., and Neysens, p. 2005. The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science & Technology*. 16, 43-56.
- Devuyst, L., and Vancanneyt, M. 2007. Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. *Food Microbiology*. 24, 120-127.
- Diowksz, A., and Ambroziak, W. 2006. Sourdough. In: Hui, Y.H., Corke, H., De Leyn, I., Nip, and W.K., Cross, N.A. (Eds). *Bakery Products*. Food Science and Technology. Oxford: *Blackwell publishing*. 365-388.
- Ferchichi, M., Valcheva, R., Vost, H., Onno, B., and Dousset, X. 2007. Molecular identification of the microbiota of french sourdough using temporal temperature gradient gel electrophoresis. *Food Microbiology*. 24, 678-686.
- Gobbetti, M. 1998. The sourdough microflora, Interactions of lactic acid bacteria and yeasts. *Trend in Food Science and Technology*. 9, 267-274.
- Gobbetti, M., Smacchi, E., Fox, P., Stepaniak, L. and Corsetti, A. 1996. The sourdough microflora. Cellular localization and characterization of proteolytic enzymes in lactic acid bacteria. *LWT Food Science and Technology*. 29, 561-569.
- Gomez, M., Ronda, F., Caballero, P.A., Blanco, C.A., Rosell, C.M. 2007. Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes. *Food Hydrocolloids*. 21, 167-173.
- Gray, J., and Bemiller, J. 2003. Bread staling, Molecular basis and control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2, 1-21.
- Gul, H., Zcelik, S., Sagdic, O., and Certel, M. 2005. Sourdough bread production with *Lactobacilli* and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. *Process Biochemistry*. 40, 691-697.
- Hammes, W.P., Brandt, M.J., Francis, K.L., Rosenheim, M., Seitter, F.H., and Vogelmann, S. 2005. Microbial ecology of cereal fermentations. *Trends in Food Science and Technology*. 16, 4-11.
- Haralick, R.M., Shanmugam, K., and Dinstein, I. 1973. Textural features for image classification. *IEEE Transactions of ASAE*. 45, 1995-2005.
- Izydorczyk, M.S., and Dexter, E. 2008. Barley  $\beta$ -glucan and arabinoxylans molecular structure, physicochemical properties. *International Journal of Food Properties*. 7, 2850-857.
- Katina, K., 2005, Sourdough a tool for the improved flavour, texture and shelf-life of wheat bread. VTT Technical Research Centre of Finland, *VTT publication* 569. 13-41.
- Katina, K., Heinio, R.L., Autio, K., and Poutanen, K. 2006. Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *LWT Food Science and Technology*. 39, 1189-1202.
- Katina, K., Liukkonen, K.H., Kaukovirta-Norja, A., Adlercreutz, H., Heinonen, S.M., Lampi, A.M., Pihlava, J.M., and Poutanen, K. 2007. Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. *Journal of Cereal Science*. 46, 348-355.
- Katina, K., Poutanen, K., and Autio, K. 2004. Influence and interactions of processing conditions and starter culture on formation of acids, volatile compounds and amino acids in wheat sourdoughs. *Cereal Chemistry*. 81, 598-610.
- Korakli, A., Pavlovic, M., Michael, G., and Rudif, V. 2003. Exopolysaccharide and kestose production by *Lactobacillus sanfranciscensis* LTH 2590. *Applied and Environment Microbiology*. 69, 2073-2079.
- Lacaze, G., Wick, M., and Cappelle, S. 2007. Emerging fermentation technologies: Development of novel sourdoughs. *Food Microbiology*. 24, 155-160.
- Lonner, C., Welander, T., Malin, N., and Dostalek, M. 1986. The microflora in a sourdough started spontaneously on typical Swedish rye meal. *Food Microbiology*. 3, 3-12.
- Maleki, M., Hoseney, R.C., and Mattern, P.J. 1980. Effects of loaf volume, moisture content and protein quality on the softness and staling rate of bread. *Cereal Chemistry*. 57, 138-140.
- Martin, M.L., and Hoseney, R.C. 1991. A mechanism of bread firming. Role of starch hydrolyzing enzymes. *Journal of Cereal Chemistry*. 68, 503-507.

- Meignen, B., Onno, B., Gelinas, P., Infantes, M., Guilois, S., and Cahagnier, B. 2001. Optimization of sourdough fermentation with *Lactobacillus brevis* and baker's yeast. *Food Microbiology*. 18, 239-245.
- Reale, A., Tremonte, P., Succi, M., Sorrentino, E., and Coppola, R. 2005. Exploration of lactic acid bacteria ecosystem of sourdoughs from the Molise region. *Annals of Microbiology*. 55, 17-22.
- Ribotta, P.D., Cuffini, S., Leon, A.E., and Anon, M.C. 2004. The staling of bread: an X-ray diffraction study. *European Food Research Technology*. 218, 219-223.
- Sadeghi, A., Shahidi, F., Mortazavi, A., and Nassirimahallati, M. 2008. Evaluation of *Lactobacillus sanfranciscensis* (ATCC 14917) and *Lactobacillus plantarum* (ATCC 43332) effects on Iranian Barbari bread shelf life. *African Journal of Biotechnology*. 7, 3346-3351.
- Siljestrom, M., Bjorck, I., Eliasson, A.C., Lonner, C., Nyman, M., and Asp, N.G. 1988. Effect of polysaccharides during baking and storage of bread. In vitro and in vivo studies. *Cereal Chemistry*. 65, 1-8.
- Simsek, O., Hilmi Con, A. and Tulumoglu, S. 2006. Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. *Food Control*. 17, 263-270.
- Shahedi, M. 2002. Factors affecting on the shelf life of bread. First report of wheat production and consumption. Faculty of Agriculture, Tehran University (in Persian).
- Shehzad, A., Chiron, H., Della Valle, G., Kansou, K., Ndiaye, A., and Reguerre, A.L. 2010. Porosity and stability of bread dough during proofing determined by video image analysis for different compositions and mixing conditions. *Food Research International*. 43, 1999-2005.
- Standards of flat sangak bread. 2002. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. ISIRI number 6943 (in Persian).
- Thiele, C., Ganzle M.G., and Vogel, R.F. 2002. Contribution of sourdough lactobacilli, yeast and cereal enzymes to the generation of amino acids in dough relevant for bread flavour. *Cereal Chemistry*. 79, 45-51.
- Venturi, F., Andrich, G., Sanmartin, C., and Zinnai, A. 2013. The kinetics of fermentations in sourdough bread stored at different temperature and influence on bread quality. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*. 3, 134-138.



## Evaluation the effect of dominant *Lactobacillus* starter isolated from traditional sourdough on staling of cup bread produced with whole wheat flour

A. Abedfar<sup>1</sup>, A. Sadeghi<sup>2\*</sup>, M.Kashaninejad<sup>3</sup>, M. Khomeiri<sup>4</sup>, M. Alami<sup>4</sup>

Received: 2014.11.19

Accepted: 2015.04.09

**Introduction:** Sourdough is a very complex biological system and an important modern fermentation method of cereal flours and water. Sourdough fermentation is based on lactic acid and alcoholic fermentation depending on the composition of micro flora and fermentation conditions. Commercial sourdough processes do not rely on fortuitous flora but on the use of specific starter cultures. There has also been much progress in the development of tools that allow for the selection of key sourdough microorganisms for particular activities such as those concerned with enzymatic, antimicrobial, nutritional and additive replacement aspects. Most of the beneficial properties attributed to sourdough are determined by the acidification activity of dominant *Lactobacillus* starters. Sourdough fermentation can improve texture and palatability of whole grain fiber-rich, stabilize or increase levels of various bioactive compounds, retard starch retro-gradation and improve mineral bioavailability. The acidification of the sourdough and the partial acidification of the bread dough will impact on structure-forming components like gluten, starch and arabinoxylans. The swelling of gluten in acid is a well-known effect and mild acid hydrolysis of starch in sourdough systems has also been hypothesized for delay bread staling. The objectives of this research were to apply the dominant *Lactobacillus* starter isolated from traditional sourdough for cup bread production with whole wheat flour and delay its staling.

**Materials and methods:** In this study, following isolation of dominant *Lactobacillus* starter from traditional sourdough produced with whole wheat flour, the starter was identified by specific PCR. The single colonies obtained from streak plate of the sourdough culture, were subjected to species specific PCR. Afterwards, the mentioned starter was used for sourdough preparation. For this purpose, the effect of flour components (extraction rate, moisture, protein, ash and falling number), fermentation times (8, 16, 24 h) and sugar contents (0.5, 1, 1.5%) on starter activity were evaluated. pH and total titratable acidity (TTA) of sourdough treatments were measured. After processing of cup breads with sourdough treatments, the staling of these breads were also examined 2, 48 and 96 h after baking, based on crumb firmness (texture analysis) and amount of porosity (Image j method). Finally for statistical analysis a completely randomized design with factorial arrangement and 3 replications was used. To study the relationship between bread hardness and porosity with fermentation conditions, multiple linear regression was used and regression models were exhibited.

**Results and Discussion:** By sequencing of the PCR products (obtained from sourdough culture), dominant *Lactobacillus* starter was identified as *Lactobacillus plantarum*. The TTA profile for the sourdoughs was also quite similar (starters interestingly continue to produce acid) and by increasing of TTA, the pH values were decreased. The acid production depends on factors such as fermentation temperature, time and dough yield. In general, a higher temperature, a higher water content of sourdough and the utilization of whole meal flour enhances the production of acids in wheat sourdoughs. The effect of sourdough on softness improvement was partly due to a higher porosity. Among the bread samples, 96 h after baking, lowest crumb firmness was observed in sample produced with sourdough with 24 h fermentation and 0.5% sugar content. The maximum amount of crumb firmness was observed in sample produced with sourdough after 8 h fermentation and 1.5% sugar content. Furthermore, the maximum amount of porosity was obtained after 24 h sourdough fermentation and 1.5% sugar content, while the lowest amount was obtained after 8 h sourdough fermentation and 0.5% sugar content. After evaluation the results of texture analysis and porosity tests, significant correlation coefficients

1, 2, 3 and 4. Former MSc student, Assistant Professor, Professor and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources  
(\*-Corresponding Author Email: Sadeghi.gau@gmail.com)

were established between porosity and softness, and it is reported that volume improvement is the main reason for a better shelf life in sourdough breads. The relationship between factors affecting on sourdough fermentation including fermentation time, sugar content and flour components, were also exhibited as regression models for examination texture characteristics of sourdough breads based on those viscoelastic behavior. By increasing the fermentation time in all of the sourdoughs, crumb hardness was decreased. Acids strongly influence the mixing behavior of doughs. Doughs with lower pH values require a slightly shorter mixing time and have less stability than normal doughs. Fundamental rheological evaluation of acid effect on gluten systems model indicated that both softness and elasticity of gluten were increased. Further to the direct impact of low pH on dough characteristics, secondary effects of acidification and fermentation time including changes in the activity of cereal or bacterial enzymes associated. Wheat flour proteases have optimal activity around pH=4. In addition, proteolytic enzymes with acidic pH optima in vital wheat gluten have been detected. Process requirements for optimum quality were strain-specific and different for textural improvement which should be taken in to account in designing future sourdough baking processes. According to results of this research, the influence of sourdough on bread softness during storage was depended on fermentation conditions and significant effect of sourdough process conditions on bread staling was clarified in comparison to control sample.

**Keywords:** Sourdough bread, staling, porosity, whole wheat flour, dominant *Lactobacillus* starter.

## کاربرد پس از برداشت نانو کربنات کلسیم بر فعالیت آنزیمی و برخی خصوصیات کیفی در سیب تازه بریده رقم 'گلدن دلشز'

محمد رضا اصغری<sup>۱\*</sup>، راحله جمی<sup>۲</sup>، علیرضا فرخزاد نانساء<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۵/۲۸

### چکیده

با توجه به حساس بودن برش‌های تازه میوه به عوامل ایجاد ضایعات استفاده از روش‌های تکمیلی برای نگهداری آنها ضروری می‌باشد و برای این منظور استفاده از فناوری‌های نوین در نگهداری این محصولات، اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. نظر به نقش کلسیم در استحکام بافت و حفظ کیفیت میوه‌های تازه بریده شده، این پژوهش با هدف بررسی اثر نانو کربنات کلسیم در حفظ کیفیت میوه‌های تازه بریده شده سیب زرد لبنانی طی مدت نگهداری، انجام شد. میوه سیب پس از برداشت و آماده‌سازی با نانو کربنات کلسیم، پوشش‌دهی و به‌همراه نمونه‌های شاهد در دمای  $1 \pm 0/5$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ تا ۹۵ درصد به مدت ۲۰ روز نگهداری شد. هر ۱۰ روز یک بار و در طول مدت نگهداری فعالیت‌های آنزیمی (کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز)، آنتی‌اکسیدان کل و برخی خصوصیات کیفی ویتامین ث و افت وزن مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پوشش‌دهی میوه‌های تازه بریده سیب با نانو کربنات کلسیم باعث کاهش فعالیت‌های آنزیمی مخرب در سطح احتمال ۱ درصد شد. بطوری که در مقایسه با نمونه‌ی شاهد در نمونه‌های تیمار شده میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز کاهش یافت، همچنین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان آنزیم کاتالاز در میوه‌های پوشش داده شده در مقایسه با نمونه‌های شاهد در طی مدت نگهداری در سردخانه بیشتر بود. از بین تیمارهای مورد استفاده، تیمار بعد برش با غلظت ۰/۱ درصد بیشترین تاثیر را در حفظ ویتامین ث با مقدار ۶/۹۴ میلی‌گرم اسید آسکوربیک و درصد کاهش وزن با مقدار ۲/۰۱ درصد در طی مدت نگهداری نشان داد. پوشش‌دهی میوه تازه بریده سیب با نانو کربنات کلسیم می‌تواند به‌عنوان روشی کارا در افزایش ماندگاری میوه سیب در سردخانه و حفظ بهتر کیفیت این میوه سلامتی بخش معرفی شود.

**واژه‌های کلیدی:** سیب، نانو کربنات کلسیم، برش تازه میوه، پوشش‌دهی و فعالیت آنزیمی

### مقدمه

در بسته‌بندی قرار گرفته‌اند (Baeza, 2007). میوه‌ها و سبزی‌های تازه بریده که امروزه در سطح تجاری بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد عبارتند از: خربزه، طالبی، هندوانه، سیب، انبه، گریپ فروت، آناناس، هویج، ذرت، کلم بروکلی، کلم‌گل، مارچوبه و سیب‌زمینی شیرین (IFPA<sup>۴</sup>, 2012). محصولات تازه بریده از سال ۱۹۴۰ در خرده فروشی‌ها عرضه می‌شوند و تا به حال این صنعت رشد زیادی داشته است، در سال ۲۰۱۳ بیشترین میزان فروش میوه‌های تازه بریده مربوط به سیب، برابر ۲۱/۸ درصد بوده است (FAO, 2013)، یکی از دلایل تقاضای بالای سیب در مقایسه با سایر میوه‌ها ارزش غذایی بالای این محصول می‌باشد (Watada and Qi, 1999). مراحل آماده‌سازی محصولات تازه بریده منجر به آسیب به بافت محصول و در نتیجه افزایش تنفس و تولید اتیلن، اتلاف آب، از هم‌پاشیدگی سلول و قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌شود و میزان فعالیت باکتری‌های در

امروزه به دلیل ماشینی‌شدن زندگی مصرف‌کنندگان نیازمند مواد غذایی هستند که زمان کمی برای آماده‌سازی آنها نیاز باشد، به همین دلیل صنعت میوه‌ها و سبزی‌های تازه بریده به سرعت در جهان در حال رشد است. میوه‌ها و سبزی‌های تازه بریده به عنوان پاسخی به تقاضای راحت‌تر شدن زندگی روزانه مصرف‌کنندگان در نظر گرفته می‌شوند. محصولات تازه بریده شامل هرگونه میوه یا سبزی یا ترکیبی از آنها هستند که پوست آنها گرفته شده و قاچ‌ها شسته شده‌اند و به‌صورتی که کاملاً قابل مصرف‌اند، برش داده شده و سپس

۱ و ۳ به ترتیب استاد، دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

(\*) - نویسنده مسئول: (Email: m.asghari@urmia.ac.ir)

DOI: 10.22067/iftstr.v1395i0.45104

محل های آسیب دیده افزایش می یابد (Schlimme *et al.*, 1994). یکی از علل افزایش تنفس در بافت های آسیب دیده افزایش اتیلن می باشد که باعث تحریک تنفس می شود. در نتیجه افزایش متابولیسم سلولی، نشاسته به قندهای محلول تبدیل می شود که افزایش قندهای محلول چرخه ی تری کربوکسیلیک اسید و زنجیره انتقال الکترون را تحریک می کند (Bretch *et al.*, 1995). از علل دیگر افزایش شدت تنفس، افزایش سطح تماس سلول ها با اتمسفر است که باعث می شود اکسیژن با سرعت بیشتری به سلول های درونی نفوذ کند (Reyes, 1995). در محصولات تازه بریده به دلیل نبود پوشش های محافظت کننده سلول ها، میزان اتلاف آب و قهوه ای شدن بیشتر می شود. این قهوه ای شدن بیشتر به دلیل فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) می باشد، که در حضور این آنزیم و اکسیژن ترکیبات فنلی اکسیده شده و به ۱-کوئینون ها تبدیل می شوند. میزان قهوه ای شدن محصولات تازه بریده به غلظت آنزیم پلی فنل اکسیداز، مقدار ترکیبات فنلی در بافت میوه، pH، دما، اکسیژن و مقدار ترکیبات آنتی اکسیدانی در بافت و نیز رقم محصول بستگی دارد (Mc-Evily *et al.*, 2002). کیم و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند، که در میان ۱۲ رقم سیب، تنها میوه های تازه بریده ارقام Cortland, Empire, Golden Delicious و New York 674، کمترین میزان قهوه ای شدن را در طول دوره ی نگهداری در دمای ۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳ روز از خود نشان دادند. بنابراین انتخاب رقم مناسب برای کنترل قهوه ای شدن محصولات تازه بریده مهم می باشد. فساد میکروبی یک عامل موثر در افزایش ضایعات محصولات تازه بریده می باشد. حساسیت میوه های تازه بریده به آلودگی میکروبی بسیار بیشتر از سبزیجات می باشد زیرا در میوه ها قندهای محلول بیشتری برای رشد عوامل بیماری زا وجود دارد، که با ایجاد صدمه در بافت در نتیجه بریدن یا پوست گیری به سرعت در دسترس عوامل بیماری زا قرار می گیرند، همچنین افزایش قندهای محلول باعث افزایش pH می شود که برای رشد قارچ ها و مخمرها مناسب است (Guerzoni *et al.*, 1996). بنابراین لازم است با مدیریت دما، استفاده از ترکیبات استحکام بخش برای سلول ها نظیر ترکیبات کلسیم دار، نگهداری محصول تحت شرایط اتمسفر تغییر یافته و نیز بکارگیری فن آوری نانو طول عمر محصولات تازه بریده را تا حد امکان افزایش داد و کیفیت آنها را تا رسیدن بدست مصرف کننده حفظ نمود.

در سال های اخیر فن آوری نانو به عنوان یک فن آوری جدید در علوم کشاورزی و صنایع وابسته به آن وارد شده است. این فن آوری کاربردهای وسیعی در همه مراحل تولید، فرآوری، نگهداری، بسته بندی و حمل و نقل تولیدات کشاورزی دارد (Andreta, 2003). ترکیبات در مقایس نانو ویژگی های متفاوتی نسبت به شکل معمولی نشان می دهند زیرا گذر از میکرو ذرات به نانو ذرات، منجر به افزایش نسبت سطح به حجم و ورود اندازه ذره به قلمرو اثرات کوانتومی می -

شود. افزایش نسبت سطح به حجم که به تدریج با کاهش اندازه ذره رخ می دهد، باعث افزایش فعالیت ذرات و در نتیجه افزایش اثرگذاری آنها می شود (Miller and Senjen, 2008). در میان عناصر شاید کلسیم مهم ترین عنصر معدنی موثر در تعیین کیفیت میوه باشد که خصوصاً در سیب، به و گلابی عمر نگهداری میوه را افزایش می دهد. تیمار با یون کلسیم در میوه ها سبب استحکام دیواره سلولی و باعث ایجاد پل های عرضی بین پلیمرهای پکتین دیواره سلولی و اجزاء غشاء سلول ها می شود و در نتیجه میزان فعالیت آنزیم های هضم کننده دیواره سلولی نظیر پکتین متیل استراز، پکتیناز و پلی گالاکتوروناز کاهش می یابد (White and Broadly, 2003). این آنزیم ها باعث تخریب پکتین دیواره سلولی می شوند که یون های کلسیم با اتصال به اسیدهای پکتیک آنها را در مقابل آنزیم های مذکور مقاوم می سازد (Pressy and Avants, 1978). در میوه های آووکادو که با ترکیب کلرید کلسیم تیمار شده بودند، کلسیم منجر به کند شدن روند تنفس و افزایش مواد فنلی گردید (Rensburg and Engelbrecht, 1985). آگویو و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که ترکیبات مختلف کلسیم (کربنات، لاکتات، کلرید و پرپیونات کلسیم) سفتی، بیماری های قارچی و خواص کیفی هندوانه تازه بریده رقم "Amarillo" را تحت تاثیر قرار می دهند. نانو کربنات کلسیم در ترکیب با کیتوزان به منظور جلوگیری از قهوه ای شدن آنزیمی و حفظ سفتی میوه لوکوات<sup>۱</sup> موثر بوده است زیرا نانو کلسیم با ایجاد پیوند در دیواره سلولی و جلوگیری از تخریب دیواره ها و غشاهای سلولی میزان اکسیژن دریافتی را کاهش داده و در نتیجه میزان اکسیده شدن ترکیبات فنلی را کاهش می دهد (Zhou and Zisheng, 2008). تیمار پس از برداشت سیب های زرد لبنانی با گرما و محلول کلرید کلسیم باعث کاهش پوسیدگی شده و سفتی محصول را به مدت ۶ ماه در دمای صفر درجه سانتی گراد حفظ نمود (William, 1994). یون کلسیم سنتز برخی فیتوآلکسین ها و ترکیبات فنولی را تحریک می کند که بازدارنده رشد قارچ ها هستند و همچنین کلسیم یک پل کاتیونی بین اسیدهای پکتیک در دیواره سلولی تشکیل داده و به این ترتیب آن را در مقابل آنزیم های پلی گالاکتوروناز قارچ ها مقاوم می کند (Biggs *et al.*, 1997). البته کلسیم در غلظت های بالا با ایجاد صدمه به سطح میوه باعث افزایش سرعت نرم شدگی میوه می گردد که این می تواند از اثرات اسمری کلسیم باشد (Saftner *et al.*, 1998).

هدف از انجام این تحقیق مقایسه اثر تیمارهای نانو کربنات کلسیم، قبل از برش و بعد از برش بر فعالیت برخی آنزیم ها و ویژگی های کیفی در قطعات میوه تازه بریده سیب رقم زرد لبنانی بود. رقم "زرد لبنانی" به دلیل میزان تولید و مصرف زیاد و بازپسندی

انتخاب گردید (Aboot and Conway, 2004)

## مواد و روش‌ها

### آماده‌سازی نانو کربنات کلسیم

امولسیون روغن (استئاریک اسید) در ۵۰۰ سی‌سی آب، به‌منظور سوسپانسیون کردن ترکیبات نانو، در درجه حرارتی نزدیک به نقطه ذوب چربی گرما داده شد. در ظرفی جداگانه ۰/۱ درصد نانو کربنات کلسیم (شرکت نانو مواد ایرانیان، اسپانیا) توزین شده و ۵ سی‌سی اتانول ۷۰٪ به آن اضافه شد، سپس ۰/۰۲۵ گرم استئاریک اسید (شرکت اروم طب، نام تجاری KAI LU) به ظرف حاوی نانو کربنات کلسیم اضافه شده و محلول مورد نظر به مدت ۴۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شد و سپس بعد از سرد شدن برای اعمال تیمار استفاده گردید (Zhou and Zisheng, 2008).

### پوشش‌دهی میوه

میوه‌های سیب رقم زرد لبنانی *Malus domestica borkh. Cv. Golden Delicious* در مرحله بلوغ تجاری از شهرستان ارومیه منطقه گوی تپه در مهر ماه برداشت شدند و سیب‌هایی با ابعاد یکنواخت و دارای اندازه یکسان انتخاب شده و به آزمایشگاه منتقل گردیدند و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰-۹۵ درصد در سردخانه در ظروف پلی‌اتیلنی

نگهداری شدند. میوه‌ها با محلول ضدعفونی‌کننده (مارک داتیس، شرکت بهنوژن، ایران) میوه و سبزی به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی، سپس شسته شده و خشک گردیدند. هر میوه با استفاده از چاقوی فلزی ضد زنگ تیز به ۴ برش مساوی تقسیم و سپس قسمت مرکزی برش‌ها خارج شد. نیمی از میوه‌ها در آزمایشگاه قبل از برش در محلول نانو کربنات کلسیم در غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد به مدت چهار دقیقه غوطه‌ور شدند و میوه‌ها به مدت نیم ساعت در معرض هوا قرار گرفتند تا خشک شوند و نیمی دیگر از میوه‌ها بعد از برش با همان غلظت‌های نانو کربنات کلسیم به مدت زمان دو دقیقه غوطه‌ور شدند پس از خشک‌شدن سطح میوه‌ها در دمای آزمایشگاه به مدت نیم‌ساعت، میوه‌ها در ظروف پلاستیکی در بسته یکبار مصرف (۸ برش در هر ظرف) که از قبل برچسب‌زنی شده و نوع تیمارشان هم معلوم گردیده بود، قرار گرفتند و در سردخانه با دمای  $1 \pm 0.5$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد به مدت ۲۰ روز نگهداری شدند. میوه‌های تازه بریده به دلیل نداشتن پوست محافظتی در تماس مستقیم با محلول مورد نظر بوده در نتیجه اگر زمان اعمال تیمار با زمان میوه‌های سالم یکسان در نظر گرفته می‌شد، امکان مشاهده اثر سمیت تیمارهای بکار برده شده می‌باشد (Baeza, 2007). میوه‌های شاهد نیز با آب مقطر تیمار شده و پس از خشک شدن سطح میوه به سردخانه منتقل گردیدند (شکل ۱- الف و ب).



(شکل ۱- ب: تیمار قبل از برش)



(شکل ۱- الف: تیمار بعد از برش)

### سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز طبق روش پیزوکارو و همکاران (۱۹۹۳) و براساس اکسیداسیون کاتکول اندازه‌گیری شد. ۲/۵ میلی‌لیتر ماده بافری شامل بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار،  $\text{pH} = 6.4$  و ۵۰ میلی‌مولار کاتکول را به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی اضافه کرده

متغیرهای مورد اندازه‌گیری طی نگهداری سیب در سردخانه اندازه‌گیری خصوصیات آنزیمی در روزهای اول، دهم و بیستم نگهداری انجام گرفت.

$$A.A = (S \times N \times F \times 88.1 / C) \times 100 \quad (1)$$

A.A: میزان اسید آسکوربیک بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر  
S: مقدار KI مصرفی  
N: نرمالیت ۰/۰۱ KI  
F: فاکتور ۰/۷۴۳ KI  
C: مقدار عصاره مصرفی ۱۰ CC

### کاهش وزن میوه‌ها

برای ارزیابی میزان کاهش وزن میوه‌ها در ابتدای آزمایش و قبل از شروع نگهداری با ترازوی دیجیتالی مدل (CANDGL300) وزن شده و سپس در روزهای ۱۰ و ۲۰ مجدداً توزین شدند و میزان کاهش وزن میوه‌ها که در واقع ناشی از کاهش رطوبت میوه‌ها می‌باشد از فرمول زیر محاسبه گردید (Meng et al., 2007).

$$(2) \dots \times 100 = (\text{وزن میوه قبل از انبارداری} / \text{وزن میوه در انتهای انبارداری} - \text{وزن میوه قبل از انبارداری}) = \text{درصد کاهش وزن میوه}$$

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت فاکتوریل با ۳ فاکتور شامل نانوکربنات کلسیم، مرحله اعمال تیمار و زمان نگهداری در ۵ تکرار به منظور افزایش دقت آزمایش (۸ برش میوه در هر تکرار) انجام شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹، آلمان) و مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۱ و ۵ درصد صورت گرفت.

### نتایج و بحث

جدول ۱ نتایج تجزیه واریانس تاثیرات اصلی سه فاکتور مرحله اعمال تیمار، نانو کربنات کلسیم و زمان نگهداری بر آنتی اکسیدان کل، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، ویتامین ث و کاهش وزن را نشان می‌دهد. با توجه به معنی دار بودن اثر متقابل سه گانه بر تمام پارامترها، برای بررسی مقایسه میانگین اثرات متقابل بررسی شد

### آنتی اکسیدان کل

اخیراً توجه زیادی به نقش میوه‌ها و سبزیجات در سلامت انسان و جلوگیری از بیماری‌ها شده است. خواص حفاظتی میوه‌ها به خواص فعل‌هایی مانند گالیک اسید، کلروژنیک اسید و ظرفیت آنتی اکسیدانی آنها وابسته است. ترکیبات فنلی و آسکوربیک اسید که بیشترین مقدار آنتی اکسیدان‌ها را در سیب شامل می‌شوند باعث حفظ لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (Silva et al., 2008). نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر مرحله اعمال تیمار، نانوکربنات کلسیم و زمان نگهداری و

و پس از قرار گرفتن در بن ماری در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر مدل (Pharmacia LKB. Novaspec II) به مدت ۳ دقیقه اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی عبارت بود از میزان تغییر فعالیت PPO به مقدار ۰/۰۰۱ در دقیقه در یک میلی لیتر از عصاره آنزیم.

برای تهیه بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی مولار ۱۷/۹ گرم فسفات سدیم و ۷/۸ گرم فسفات دی هیدروژن سدیم داخل آب حل شد و به حجم یک لیتر رسانده شد و در نهایت pH محلول در ۶/۴ تنظیم شد و برای کاتکول ۵۰ میلی مولار، ۵/۵۰۵۵ گرم کاتکول در ۱ لیتر آب مقطر حل شد.

### تعیین میزان فعالیت آنتی اکسیدان کل عصاره میوه

برای تعیین میزان آنتی اکسیدان کل از روش فرپ<sup>۱</sup> استفاده شد بدین منظور برای تهیه محلول استاندارد از سولفات آهن استفاده گردید. محلول نهایی در اسپکتروفتومتر مدل (Pharmacia LKB. Novaspec II) قرار گرفت و میزان جذب در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت شد. در نهایت با رسم منحنی استاندارد میزان آنتی اکسیدان کل محاسبه و برحسب معادل میلی مول آهن در لیتر نمونه بیان گردید (Beniz and Strain, 1996).

### تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز با اندازه گیری سرعت حذف پراکسید هیدروژن بر اساس روش بیرس و سیزر (۱۹۵۲) با تغییرات اندک صورت پذیرفت. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار با pH=۷ محتوی ۰/۲ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد و ۰/۳ میلی لیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در طی یک دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد. یک واحد فعالیت آنزیمی عبارت بود از میزان تغییر کاتالاز به مقدار ۰/۰۱ در دقیقه در یک میلی لیتر از عصاره آنزیم.

### اندازه گیری میزان اسید آسکوربیک (ویتامین ث)

مقدار اسید آسکوربیک (ویتامین ث) عصاره میوه نیز با استفاده از روش تیتراسیون اندازه گیری شد. به این صورت که میزان ۱۰ CC از عصاره میوه در مجاورت ۲ CC نشاسته (۱ گرم از نشاسته توزین شده در ۱۰۰ سی سی آب مقطر) توسط یدید پتاسیم (KI) ۰/۰۱ نرمال (۱/۹۶ گرم ید با ۱۶/۶ گرم یدید پتاسیم حل کرده و حجم محلول را به ۱ لیتر رسانده شد) تا ته نشین شدن ذرات نشاسته تیتیر گردیده (جلیلی مرندي، ۱۳۸۳).

1 Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان آنتی اکسیدان کل معنی دار بود (جدول ۱).

بررسی اثر مدت زمان نگهداری نشان داد که با افزایش زمان نگهداری در سردخانه، میزان آنتی اکسیدان کل کاهش یافته است (شکل ۱). بررسی اثر تیمار نانو کربنات کلسیم در هر دو مرحله اعمال تیمار نشان داد که بیشترین میزان آنتی اکسیدان کل در روز ۱۰ام

نگهداری به تیمار بعد از برش با ۰/۱ درصد نانو کربنات کلسیم مربوط بوده، که از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با تیمار قبل از برش با ۰/۲ درصد نانو کربنات کلسیم مشاهده نشد و کمترین آن در تیمار شاهد در روز ۲۰ام نگهداری مشاهده شد که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری با تیمار بعد از برش با ۰/۴ درصد نانو کربنات کلسیم وجود نداشت (شکل ۱).

جدول ۱- نتایج مقایسه میانگین اثر تیمار نانو کربنات کلسیم، مرحله اعمال تیمار و زمان نگهداری و اثر متقابل آنها بر خصوصیات آنزیمی قطعات میوه تازه بریده سیب رقم گلدن دلشیز در مدت ۲۰ روز نگهداری در دمای  $5 \pm 0^{\circ}\text{C}$

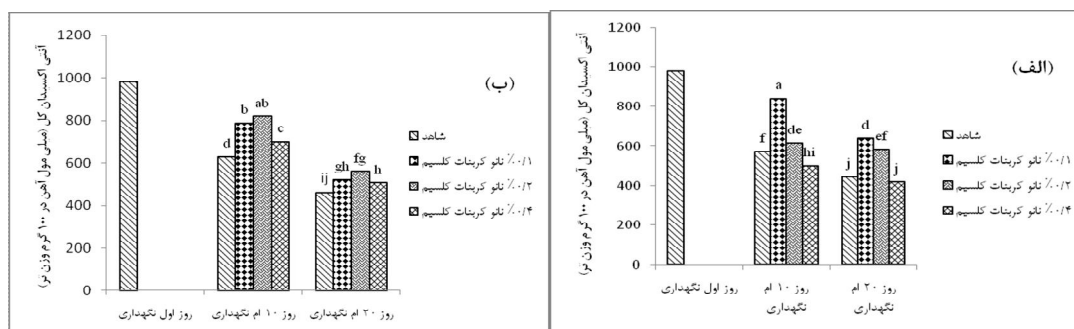
| میانگین مربعات                                       |            |                 |                 |                     |                    |                     |
|------------------------------------------------------|------------|-----------------|-----------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| منابع تغییرات                                        | درجه آزادی | آنتی اکسیدان کل | پلی فنل اکسیداز | کاتالاز             | ویتامین ث          | کاهش وزن (%)        |
| مرحله اعمال تیمار                                    | ۱          | ۳۷۷۸۶/۲۴**      | ۱۷۲۱۱۳/۷۸**     | ۰/۵۴۸ <sup>ns</sup> | ۴۷/۵۶**            | ۰/۰۰۸ <sup>ns</sup> |
| نانو کربنات کلسیم                                    | ۳          | ۱۴۰۰۲۰/۲۲**     | ۴۸۱۶۵۵/۳**      | ۸/۶۱۱**             | ۱/۵۰۳**            | ۰/۶۳**              |
| زمان نگهداری                                         | ۱          | ۵۳۴۱۱۵/۲۸**     | ۳۸۱۶۱۱/۷۵**     | ۱۰/۲۷۷**            | ۱۳۰/۹۵**           | ۰/۱۹**              |
| مرحله اعمال تیمار × نانو کربنات کلسیم                | ۳          | ۴۵۳۷۷/۳۶**      | ۱۷۶۴۴/۶۶**      | ۳/۱۷۱**             | ۱/۴۴**             | ۰/۰۵**              |
| مرحله اعمال تیمار × زمان نگهداری                     | ۱          | ۷۰۳۶۸/۲۸**      | ۱۵۳۸۷/۳۷**      | ۱/۶۶۴**             | ۱۸/۲۸**            | ۰/۰۳*               |
| نانو کربنات کلسیم × زمان نگهداری                     | ۳          | ۱۱۶۲۹/۵۱**      | ۵۵۸۵۸/۶۲**      | ۰/۲۱۵ <sup>ns</sup> | ۰/۵۲ <sup>ns</sup> | ۰/۰۶۸**             |
| مرحله اعمال تیمار × نانو کربنات کلسیم × زمان نگهداری | ۳          | ۸۶۸۷/۸۴**       | ۳۶۸۹/۰۸*        | ۰/۶۱۵**             | ۸/۱۹**             | ۰/۴۳**              |
| خطای آزمایشی                                         | ۶۴         | ۹۵۹/۹۶۱         | ۱۲۲۲/۵۶         | ۰/۱۷                | ۰/۲۲               | ۰/۰۰۵               |
| ضریب تغییرات (%)                                     |            | ۵/۱۵            | ۴/۸۳            | ۹/۳۱                | ۱۰/۰۷              | ۳/۲۳                |

ns، \*\* و \* به ترتیب نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین ها و اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ می باشد.

با بررسی دو مرحله اعمال تیمار ( تیمار قبل از برش و تیمار بعد از برش) مشاهده گردید که تیمار قبل از برش با غلظت ۰/۲ درصد (شکل ۱، ب) و در تیمار بعد از برش با غلظت ۰/۱ درصد نانو کربنات کلسیم (شکل ۱، الف) در حفظ فعالیت آنتی اکسیدانی موثر بوده اند. در این تحقیق در قطعات سیب پوشش دهی شده فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر حفظ شد که این می تواند به این دلیل باشد که رادیکال های آزاد در میوه های تیمار شده کمتر بوده در نتیجه آنتی اکسیدان کمتری برای حذف آنها مصرف شده اند در واقع آنتی اکسیدان ها با دادن الکترون به رادیکال های آزاد، خود اکسیده شده و قدرت اکسید کنندگی و ایجاد خسارت توسط رادیکال های آزاد را از بین می برند از این رو توجه زیادی به عاملین حذف رادیکال های آزاد شده است. در واقع بخش قابل توجهی از کلسیم در دیواره بافت های گیاهی جای می گیرد. این وضعیت منحصر به فرد کلسیم به سبب وجود جایگاه های زیاد تثبیت کلسیم در دیواره سلولی و نیز جابجایی محدود آن از غشای سیتوپلاسم به درون سیتوپلاسم سلول است. در تیغه میانی کلسیم با تشکیل پکتات کلسیم از تجزیه پکتات توسط آنزیم پلی گالاکتوروناز می کاهد در نتیجه غلظت بالای کلسیم، فعالیت آنزیم عامل این تجزیه را کاهش می دهد همچنین افزایش میزان کلسیم بافت گیاهی از طریق کاستن از میزان نشت سوبسترای تنفسی از واکنش ها، باعث کاهش سرعت تنفس، رادیکال های آزاد و کاهش

رسیدن میوه می شود و بدین ترتیب ترکیبات کلسیمی منجر به حفظ آنتی اکسیدان ها می شوند.

گفتنی است که هیچ عنصر دیگری، حتی عناصر دو ظرفیتی مشابه نظیر منیزیم نمی تواند جایگزین کلسیم شده و وظایف آن را در ساختار سلول های گیاهی اجرا نماید (Cheour and Willemot, 1991). در تیمار بعد از برش با ۰/۴ درصد نانو کربنات کلسیم کمترین میزان محتوای آنتی اکسیدان کل مشاهده شد (شکل ۱، الف)، زیرا غلظت بالای کلسیم ممکن است به سمیت ناشی از غلظت بالای این عنصر منجر شود که این عامل باعث هیدرولیز دیواره سلولی می شود (Gupta et al., 2011). سلیمانی اقدم و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که کاربرد پس از برداشت تیمار کلسیم در حفظ آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی از قبیل فنل، فلاونوئیدها، آنتوسیانین و آسکوربیک اسید موثر بوده است. پوشش دهی میوه باعث کوچک تر شدن قطر منافذ سطح میوه شده و کاهش نفوذ پذیری آن نسبت به اکسیژن و آب را به دنبال دارد. در نتیجه، فعالیت آنزیمی میوه کمتر خواهد بود و فاسد شدن میوه به تعویق خواهد افتاد مطالعات زیادی روی پوشش های نانو امولسیون انجام شده است که نشان می دهد کاهش اندازه ذرات و امولسیون بودن آن می تواند سبب بهبود کیفیت پوشش در مقایسه با سایر پوشش ها شود (Jannesari et al., 2012).

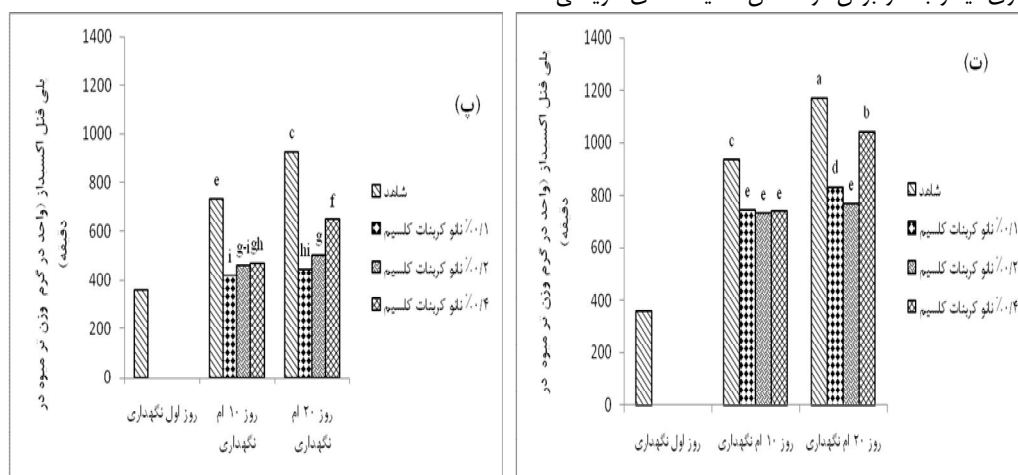


شکل ۱- تغییرات در میزان فعالیت آنتی اکسیدان کل در سیب تازه بریده پوشش داده شده با نانو کرینات کلسیم طی مدت نگهداری در سردخانه. (شکل الف) نشان دهنده تیمار بعد از برش و (شکل ب) نشان دهنده تیمار قبل از برش. حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی دار بودن اختلاف میانگین ها در سطح احتمال ۱٪ در آزمون دانکن می باشد.

موثرتر از تیمار قبل از برش بوده است. فعالیت این آنزیم توسط میزان تنفس، غلظت عناصر غذایی، استحکام بافت میوه و آنتی اکسیدان ها تنظیم می شود و عواملی نظیر زمان برداشت، دما، ترکیب گازی اتمسفر و شرایط محیطی نیز بر فعالیت آن موثر می باشند (Ding et al., 2002). در پژوهش حاضر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در میوه های تیمار شده با کلسیم کمتر از میوه های شاهد بود زیرا کلسیم از فعالیت آنزیم های هضم کننده دیواره سلولی جلوگیری نموده و بدین ترتیب مصرف اسیدهای آلی در واکنش های تنفسی را به تاخیر می اندازد و چون فعالیت بهینه این آنزیم در pH بین ۶ تا ۶/۵ می باشد لذا به خاطر پایین ماندن pH، فعالیت آنزیم در حد پایینی باقی می ماند و همچنین در میوه های تیمار شده به دلیل کنترل میزان ورود اکسیژن به داخل سلول، میزان فعالیت این آنزیم کمتر است (Whitaker, 1994).

### پلی فنل اکسیداز

تجزیه واریانس داده های مورد بررسی نشانگر آن است که اثر مرحله اعمال تیمار، نانو کرینات کلسیم و زمان نگهداری بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بوده است. همچنین اثر متقابل تیمار نانو کرینات کلسیم، مرحله اعمال تیمار و مدت زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد بر این ویژگی معنی دار بوده است. میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز با افزایش زمان نگهداری میوه ها در سردخانه افزایش داشته و میزان قهوه ای شدن شدن میوه ها افزایش پیدا کرده که بیشترین مقدار قهوه ای شدن مربوط به تیمار شاهد قبل از برش (شکل ۲، ت) و کمترین آن مربوط به تیمار بعد از برش با ۰/۱ درصد نانو کرینات کلسیم بوده است (شکل ۲، پ). همان گونه که در شکل ۲ (پ و ت) مشاهده می شود در پایان دوره ی نگهداری تیمار بعد از برش در کاهش فعالیت های آنزیمی



شکل ۲- تغییرات در میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در سیب تازه بریده پوشش داده شده با نانو کرینات کلسیم در طول نگهداری در سردخانه. (شکل پ) نشان دهنده تیمار بعد از برش و (شکل ت) نشان دهنده تیمار قبل از برش می باشند. (حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن میانگین ها در سطح احتمال ۵ درصد می باشد).

می‌باشد و فرآیند تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند. کاتالازهای گیاهی بیشتر در پراکسی‌زومها و گلی‌اکسی‌زومها جای گرفته‌اند (Van and Clijsters, 1990). در پژوهش حاضر میزان کاتالاز در تیمار بعد از برش بیشتر از تیمار قبل از برش دیده شد. دلیل این تفاوت تماس مستقیم محلول نانو کربنات کلسیم با بافت میوه بوده است که در غلظت ۰/۴ درصد کمترین میزان کاتالاز مشاهده شد زیرا کلسیم زمانی می‌تواند اثرات سودمندی را بر فعالیت آنزیمی بر جای بگذارد که مقدار آن در داخل بافت میوه در حد مشخصی باشد. با افزایش غلظت کلسیم در غشاء درونی واکوئل غلظت بالای یون، باعث پارگی بافت دیواره واکوئل شده و در نتیجه چرخه تولید اتیلن فعال شده و سرعت پیری در بافت میوه افزایش می‌یابد (Roys and Conway, 1996). Youwei و همکاران (۲۰۱۲) اعلام کردند که میوه‌های عنب تیمار شده با کیتوزان و نانو سیلیکون میزان تنفس و تولید اتیلن کمتری نسبت به میوه‌های تیمار نشده داشتند زیرا نسبت گازهای CO<sub>2</sub> و O<sub>2</sub> در حضور این پوشش‌های خوراکی کنترل می‌شود و از طرفی آسیب وارده به دیواره و غشای سلولی توسط رادیکال‌های آزاد از جمله H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و OH<sup>-</sup> کاهش پیدا می‌کند، زیرا آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، گونه‌های فعال اکسیژن را به پراکسید هیدروژن تبدیل کرده و پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز و پراکسیداز به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند که با کاهش رادیکال‌های آزاد و تولید مالون دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا لیاز در حضور نانو سیلیکون و کیتوزان کاهش پیدا می‌کند مالون دی‌آلدهید در نتیجه آسیب غشاهای سلولی تولید شده و باعث مرگ سلول‌ها می‌شود و نیز فنیل‌آلانین آمونیا لیاز در شرایط تنش تولید شده و باعث تولید فنل‌ها می‌شود که بعداً اکسیده شده و رنگ قهوه‌ای ایجاد می‌کنند.

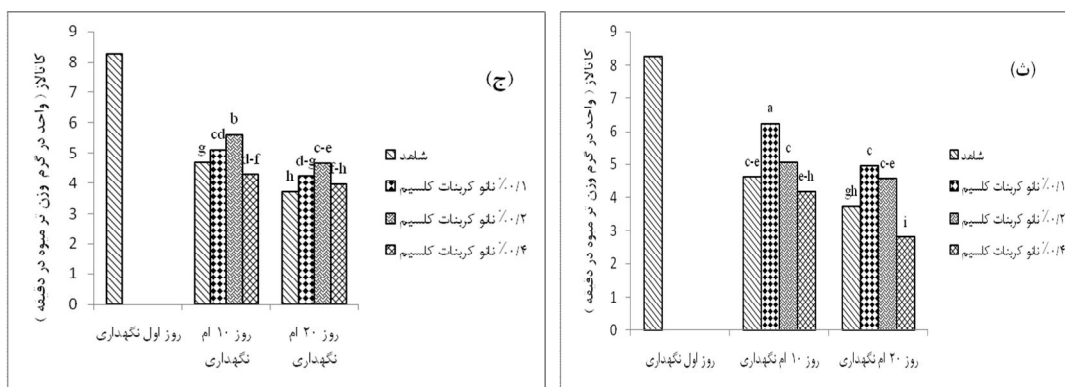
#### محتوای ویتامین ث میوه (اسید آسکوربیک)

تجزیه واریانس داده‌های مورد بررسی نشانگر آن است که اثر مرحله اعمال تیمار، نانو کربنات کلسیم و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد بر محتوای ویتامین ث میوه معنی‌دار بوده است. همچنین اثر متقابل نانو کربنات کلسیم در مرحله اعمال تیمار و اثر متقابل مرحله اعمال تیمار در زمان نگهداری و اثر متقابل سه‌گانه آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان ویتامین ث معنی‌دار بوده است. در این تحقیق میزان ویتامین ث در پایان دوره نگهداری در کل تیمارها کاهش نشان داد که این کاهش مقدار ویتامین ث در تیمار بعد برش، روند کندتری داشت و حفظ ویتامین ث در تیمار نانو کربنات کلسیم ۰/۱ درصد در روز ۱۰ ام نگهداری، بیشتر از بقیه تیمارها بوده است (شکل ۴، خ) زیرا در تیمار بعد برش بافت میوه و سلول‌ها در تماس مستقیم با محلول بوده است.

نتایج مشابهی توسط زائو و زیشنگ (۲۰۰۸) بدست آمد این محققین اظهار داشتند پوشش نانو کربنات کلسیم میزان فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز را در میوه لوکوات کاهش داده و میزان قهوه‌ای شدن میوه‌های تیمار شده ۴۳ درصد کمتر از میوه‌های شاهد بوده است و همچنین نتایج مشابهی از تاثیر نانو کربنات کلسیم بر سیب‌زمینی شیرین و بادمجان تازه بریده گزارش گردیده است (Jing and Xiaoling, 2009, Luo et al., 2009). تاثیر ترکیبات کلسیمی در مورد پلی‌فنل‌اکسیداز ممکن است به این خاطر باشد که کلسیم در سیب باعث استحکام غشای سلولی در مقابل رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیداسیون لیپیدها در اثر باند شدن به غشاء می‌شود و در نتیجه باعث کاهش فعالیت این آنزیم می‌شود. پلی‌فنل‌ها به دلیل ایجاد لکه‌های قهوه‌ای در میوه‌ها به عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات در پس از برداشت و فرآوری میوه‌ها در نظر گرفته می‌شوند. همچنین پلی‌فنل‌ها حساسیت زیادی به گرما، نور، هوا و رطوبت دارند. بنابراین قرار گرفتن در این شرایط می‌تواند اثر بسیاری از ترکیبات پلی‌فنلیک را از بین ببرد و ارزش غذایی محصولات را کاهش دهد. گزارش شده است که استفاده از ترکیبات کلسیمی (آسکوربات، کلرید، لاکتات، پروپیونات) منجر به کاهش فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز در میوه‌های تازه بریده گلابی رقم "Rocha" می‌گردد (Gomes et al., 2014). نتایج مشابهی توسط لامیکانارا و همکاران (۲۰۰۵) در هندوانه تازه بریده گزارش شده است. همچنین برای فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز به اکسیژن نیاز است که پوشش‌دهی سطح میوه باعث کاهش دسترسی سلول‌ها به اکسیژن و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده‌ای نظیر پلی‌فنل اکسیداز می‌شود.

#### کاتالاز

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر نانو کربنات کلسیم، زمان نگهداری و همچنین اثر متقابل نانو کربنات کلسیم در مرحله اعمال تیمار و اثر متقابل مرحله اعمال تیمار در زمان نگهداری و اثر متقابل سه‌گانه آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بوده است. در پایان دوره نگهداری، تیمار میوه‌های برش داده شده با نانو کربنات کلسیم در غلظت ۰/۱ درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز موثر بوده (شکل ۳، ث) ولی در تیمار قبل از برش (شکل ۳، ج) غلظت ۰/۲ درصد نانو کربنات کلسیم در افزایش فعالیت این آنزیم موثرتر بوده و نانو کربنات کلسیم در غلظت ۰/۴ درصد اثر منفی بر میوه‌ها داشته است که تاثیر منفی این غلظت در مقایسه با تیمار بعد از برش کمتر بوده است. مکانیسم‌های مختلفی جهت مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن در موجودات زنده یافت شده که کاتالاز یکی از مهم‌ترین آنها می‌باشد. کاتالاز دارای گروه آهن<sup>۲</sup>



شکل ۳- تغییرات در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در قطعات میوه سیب تازه بریده پوشش داده شده با نانو کرینات کلسیم در طی مدت نگهداری در سردخانه. شکل ث نشان دهنده تیمار بعد از برش و شکل ج نشان دهنده تیمار قبل از برش می باشد. (حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن میانگین ها در سطح احتمال ۱ درصد می باشد).

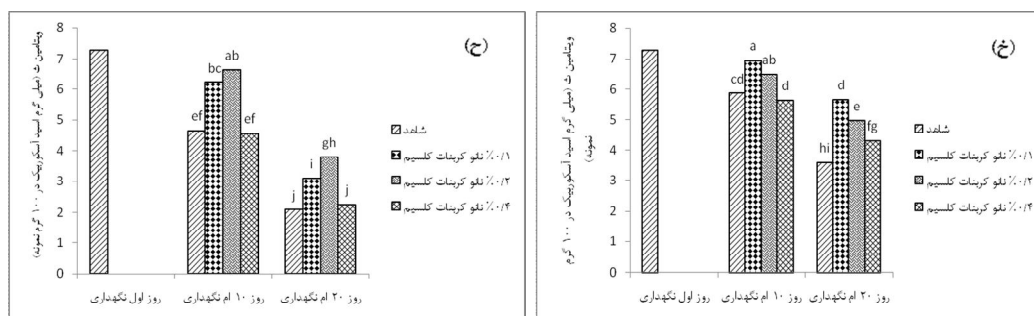
است که اثر نانو کرینات کلسیم و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بوده است همچنین اثرات متقابل مرحله اعمال تیمار در نانو کرینات کلسیم، نانو کرینات کلسیم در زمان نگهداری و اثرات متقابل سه گانه آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر درصد کاهش وزن معنی دار بوده است و همچنین اثر مرحله اعمال تیمار در زمان نگهداری در سطح احتمال ۵ درصد بر این شاخص معنی دار می باشد (جدول ۱). تغییرات میزان افت وزن در تیمار و شاهد طی ۲۰ روز نگهداری در شکل ۵ نشان داده شده است. اگرچه میزان افت وزن هر دو نمونه تیمار و شاهد روند افزایشی داشت اما میزان کاهش وزن در سیب های پوشش داده با نانو کرینات کلسیم ۰/۱ درصد در تیمار بعد از برش (شکل ۵، د) و ۰/۲ درصد در تیمار قبل از برش (شکل ۵، ذ) به مراتب کمتر از میوه بدون پوشش بود. استفاده از بسته های نانو در طول دوره ی نگهداری علاوه بر کند شدن کاهش وزن نسبت به بسته های معمولی باعث جلوگیری از نرمی بافت میوه شد و این می تواند به دلیل جلوگیری از، از دست رفتن رطوبت داخل بسته های نانو باشد (Hu *et al.*, 2011). یکی از شاخص های اصلی مورد استفاده در تعیین کیفیت میوه و عمر مفید پس از برداشت، سرعت و میزان از دست رفتن استحکام در طول مدت نگهداری می باشد. با توجه به تحقیقات وئومینگ<sup>۳</sup> در سال (۱۹۹۳)، نرم شدن میوه به علت تخریب اجزای دیواره سلولی می باشد. آنزیم هایی مانند پلی گالاکتوروناز عمدتاً بر روی پکتین دیواره سلولی عمل می کنند که باعث از هم پاشیدگی دیواره سلولی می شود از آنجایی که سیب زرد

اسید آسکوربیک یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی می باشد که میزان آن در حین رشد و نمو میوه افزایش یافته، اما بعد از برداشت در اثر فعالیت تجزیه ای آنزیم آسکوربیک اسید اکسیداز کاهش می یابد، که فعالیت این آنزیم در سطح برش بیشتر است (جلیلی مرنیدی، ۱۳۸۳). دلیل کاهش میزان اسید آسکوربیک می تواند با خنثی کردن رادیکال های آزاد در ارتباط باشد که میزان رادیکال های آزاد تولید شده در این تیمار کمتر بوده است. پوشش دهی میوه ها منجر به کاهش تبادلات گازی بین میوه و محیط شده و این پوشش دهی، به عنوان یک عامل تغییر اتمسفر داخلی عمل می نماید که این لایه ها به طور انتخابی نسبت به اکسیژن در مقایسه با دی اکسید کربن داخلی نفوذپذیری کمتری دارند که منجر به کاهش فعالیت آنزیم آسکوربیک اسید اکسیداز که در حضور اکسیژن فعالیت می کند، می شود (Morillon *et al.*, 2002). تیمار با ترکیبات کلسیمی موجب حفظ ویتامین ث در میوه سیب، پاپایا و لوکوات گردید (Mishra *et al.*, 2004; Mahmud *et al.*, 2008; Akhtar *et al.*, 2010).

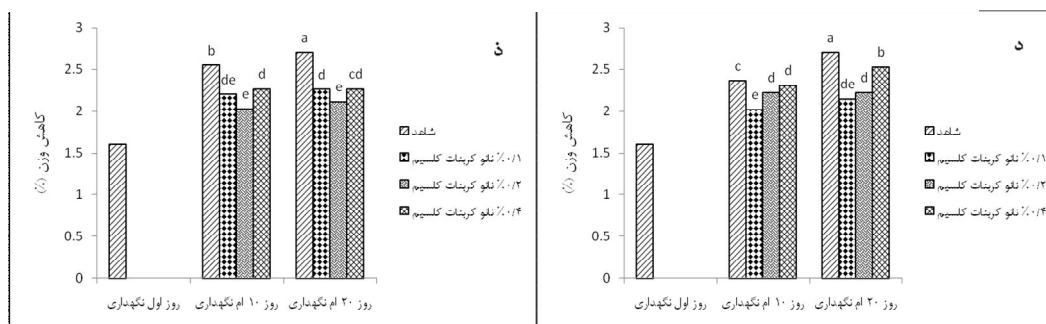
#### درصد کاهش وزن میوه

خسارت کاهش وزن میوه به طور عمده با تنفس و تبخیر رطوبت در اطراف پوست میوه ارتباط دارد همچنین کاهش وزن میوه نتیجه دهیدراسیون از سطح میوه ها نیز می باشد. در پژوهشی میوه های لوکوات تیمار شده با پوشش نانو کرینات کلسیم، ۳۴ درصد کاهش وزن کمتری در مقایسه با میوه های شاهد داشته اند (Zhou and Zisheng, 2008). تجزیه واریانس داده های مورد بررسی نشانگر آن

(Lester and Grusak, 1999). هر گونه آسیب یا برش موجب افزایش تنفس و افزایش سرعت کاهش وزن محصول می‌شود و در میوه‌های تازه بریده کاهش وزن بیشتری مشاهده می‌شود زیرا این میوه‌ها سلول‌های اپیدرمی محافظتی ندارند (Baeza, 2007). همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با گذشت زمان نگهداری میزان کاهش وزن بیشتر مشاهده می‌شود که در میوه‌های شاهد این کاهش بیشتر محسوس بوده است.



شکل ۴: تغییرات در میزان اسید آسکوربیک در قطعات میوه سیب تازه بریده پوشش داده شده با نانو کربنات کلسیم در طی مدت نگهداری در سردخانه. شکل خ نشان‌دهنده تیمار بعد از برش و شکل ج نشان‌دهنده تیمار قبل از برش می‌باشد. (حروف متفاوت نشان‌دهنده ی معنی دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد).



شکل ۵- تغییرات در میزان درصد کاهش وزن در قطعات میوه سیب تازه بریده پوشش داده شده با نانو کربنات کلسیم در طی مدت نگهداری در سردخانه. شکل (د) نشان‌دهنده تیمار بعد از برش و شکل (ذ) نشان‌دهنده تیمار قبل از برش می‌باشد. (حروف متفاوت نشان‌دهنده ی معنی دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد).

برداشت میوه سیب را افزایش داد. بیشترین فعالیت آنتی اکسیدان، ویتامین ث، درصد کاهش وزن و فعالیت‌های آنزیمی در این تیمار مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد پوشش‌های نانو با کاهش ورود اکسیژن و خروج دی‌اکسید کربن و همچنین کند نمودن آهنگ تغییرات آنتی‌اکسیدان، ویتامین ث و فعالیت‌های آنزیمی، پیری میوه‌های تازه بریده سیب را به تاخیر انداخته و باعث حفظ کیفیت میوه‌های سیب

لبنانی در جدار مومی خود دارای شکاف‌های ریزی می‌باشد که به چشم دیده نمی‌شوند، این شکاف‌ها غیر از روزنه‌های عدسک‌ها می‌باشند و باعث می‌شوند این رقم، بعد از برداشت به سرعت رطوبت خود را از دست دهد. حفظ عملکرد غشاء و یکپارچگی آن ممکن است دلیلی برای کمتر از دست دادن وزن در میوه‌های تیمار شده با کلسیم باشد (منبعی، ۱۳۸۰). زیرا استفاده از تیمار کلسیم در فعالیت، حفظ و ثبات غشاء از طریق کاهش اتلاف فسفولیپیدها و پروتئین‌ها و همچنین نشت یونی موثر می‌باشد که این امر می‌تواند، مسئول جلوگیری از اتلاف وزن در میوه‌های تیمار شده با کلسیم باشد

## نتیجه‌گیری

در این پژوهش خواص کیفی و فعالیت آنزیمی میوه تازه بریده رقم گلدن دلشیز طی دو زمان نگهداری پرداخته شد. نتایج نشان داد که استفاده از تیمار بعد برش با ۰/۱ درصد و تیمار قبل برش با ۰/۲ درصد نانو کربنات کلسیم به میزان قابل توجهی طول عمر پس از

## منابع

- جلیلی مرندي، ر. (۱۳۸۳). فیزیولوژی بعد از برداشت. چاپ دوم. نشر آموزش کشاورزی، ۳۷۰ ص.
- منیعی، ع. (۱۳۸۰). سیب و پرورش آن. ویرایش دوم. انتشارات فنی ایران. ۳۷۰ ص.
- About, J. A. And Conway, W. S., 1989, Postharvest calcium chloride infiltration affects textural attributes of apples. *Journal of American Horticultural Science*, 114, 932-936.
- Aguayo, E., Escalona, V. H. and Artes, F., 2008, Effect of hot water treatment and various calcium salts on quality of fresh-cut "Amarillo" melon. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 397-406.
- Akhtar, A, Abbasi, N. A. and Hussaini, A., 2010, Effect of calcium chloride treatments on quality characteristics of loquat fruit during storage. *Pakistan Journal of Botany*, 42, 181-188.
- Andreta, E., 2003, Nano science and nanotechnology: what future for research. Future Conference and Expo, Chiba-Shi, Chiba, Tokyo, Japan 26 February.
- Baeza, R., 2007, Comparison of technologies to control the physiological, biochemical and nutritional changes of fresh cut fruit. *International Journal of Food Science and Technology*, 30, 109-115.
- Beers, R.F. and Sizer, I.W., 1952, a spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide b. catalase. *Journal of Biology and Chemistry*, 95, 133-140.
- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J., 1996, the ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'Antioxidant Power': The FRAP assay. *Anal. Biochemistry*, 239, 70-76.
- Biggs, A. R., El-Kholi, M. M., El-Neshay, S. and Nickerson, R., 1997, Effects of calcium salts on growth, polygalacturonase activity, and infection of peach fruit by *Monilinia fructicola*. *Plant Disease*, 6, 399-403.
- Bretch, J., 1995, Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *Horticultural Science*, 30, 18-22.
- Cheour, F and C. Willemot, 1991, Postharvest response of two strawberry cultivars to foliar application of CaCl<sub>2</sub>, *Journal of Horticulture Science*, 26 (9), 1186-1188.
- Ding, C., Chachin, K., Ueda, Y. and Wang, C. Y., 2002, Inhibition of loquat enzymatic browning by sulfhydryl compounds. *Food Chemistry*, 76, 213-218.
- FAO, 2013, Food and Agriculture organization of United Nations; Available from <http://faostat.org>.
- Gomes, M., Vieira, T., Joana, F. and Almeida, P. F., 2014, Polyphenol oxidase activity and browning in fresh-cut "Rocha" pear as affected by pH, phenolic substrates, and antibrowning additives. *Postharvest Biology and Technology*, 91, 32-38.
- Guerzoni, M. E. Gianotti, A. Carbo, M. R. and Sinigaglia, M., 1996, Shelf-life modeling for fresh-cut vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 9, 195-207.
- Gupta, N, Jawandha, S. K. and Gill, P. S., 2011, Effect of calcium on cold storage and post storage quality of peach. *Journal of Food Science Technology*, 48(2), 225-229.
- Hu, H. Li, X. Dong, C. H., and Chen, W., 2011, Effect of wax treatment on quality and postharvest physiology of pineapple fruit in cold storage. *African Journal of Biotechnology*, 10, 759-760.
- IFPA, 2012, International Fresh-Cut Produce Association; available from; <http://www.creativew.com/sites/ifpa/about.html>.
- Jannesari, F., Hajirasouliha, M., Najafabadi, F. and Hashemi, M., 2012, Effect of novel chitosan nanoparticles coating on postharvest quality of strawberry. *Proceeding of the 4th International Conference on Nanostructure*, 840-842.
- Jing, X. and Xiaoling, X., 2009, Effect of chitosan coating with nano CaCo<sub>3</sub> on quality of fresh-cut yam. *Department of Food Science and Nutrition*, 40(4), 125-128.
- Kim, D. M. Smith, N. L., and Lee, C. Y., 1993, Quality of minimally processed apple slices from selected cultivars. *Journal of Food Science*, 58, 1115-1117.
- Lamikanara, O. Ingram, D. A. and Watson, M., 2005, Use of mild heat pretreatment for quality retention of fresh-cut cantaloupe melon. *Journal of Food Science*, 70(1), 53-57.
- Lester, G. E. and Grusak, M. A., 1999, Postharvest application of calcium and magnesium to honeydew and netted muskmelons: effects on tissue ion concentrations, quality and senescence. *Journal of American Society for Horticulture Science*, 124, 545-552.
- Luo, Z., Xu, X., Ting, Q. and Jing, X., 2009, Effect of nano CaCo<sub>3</sub> modified chitosan coating on physiological and biochemical indexes of fresh-cut eggplant fruits. *Department of Food Science Journal*, 30(4), 260-264.
- Mahmud, T. M. M, Al Eryani-Raqeeb, A. and Mohamed Zaki, A. R., 2008, Effects of different concentrations and application of calcium on storage life and physicochemical characteristics of papaya. *American Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3, 526-533.
- Mc-Evily, A. J. Inegar, R. and Otwell, W. S., 2002, Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Food Science and Nutrition*, 32, 253-273.

- Meng, X., Li, J. and Tian, S, 2007, Physiological responses and quality attributes of table grape to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Journal of Food Chemistry*, 106: 501-507.
- Miller, G. and Senjen, R, 2008, Nanotechnology used for food packaging and food contact materials. *Nanotechnology in Food and Agriculture*, 2, 14-68.
- Mishra, S, 2004, Calcium chloride of fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, 24, 13-87.
- Morillon, V, Debeaufort, F, Blond, G, Capelle, M. and Voilley, A, 2002, Factors affecting the moisture permeability of lipid based edible films a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 42, 67-89.
- Pizzocaro, F., Torreggiani, D. and Gilardi, G, 1993, Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. *Journal of Food Processing and Preservation*, 17, 21-30.
- Pressey, R. and Avants, J. K, 1978, Difference in polygalactaronase composition of free stone peaches. *Journal of Food Science*, 43, 1415-1423.
- Rensburg, E. and Engelbrecht, A, 1985, the effect of calcium salts on the components causing browning of avocado fruit. *South African Avacado Growers Association Yearbook*, 8, 14-15.
- Reyes, V. G. 1995. Improved preservation systems for minimally processed vegetables. *Food Australia*, 48: 87-90.
- Roy, S. and Conway, W. S, 1996, Distirbution of the anionic sites in the cell wall of apple fruit after calcium treatment. *Protoplasma*, 178, 156-167.
- Saftner, R. A., Conway, W. S. and Sams, C. E, 1998, Effect of postharvest calcium and fruit coating treatments on postharvest life, quality maintenance and fruit surface injury in "Golden delicious" apples. *Journal of American Society Horticultural Science*, 123, 294-298.
- Schlimme, D. V. and Rooney, M. L, 1994, Packaging of minimally processed fruits and vegetables. In: Chapman and Hell, *Incorporated*, 135-182.
- Silva, F. J. P., Gomes, M. H. and Almedia, D. S. F, 2008, Antioxidant properties and fruit quality during long term storage of: Rocha" pear. *Journal of Food Quality*, 33, 1-20.
- Soleimani Aghdam, M., Yousefpour, A. and Hassanpour, H, 2013, Enhancement of antioxidant capacity of cornelian cherry fruit by postharvest calcium treatment. *Scientia Horticulture*, 161, 160-164.
- Van, F. and Clijsters, H, 1990, Biotechnology for the production of secondary metabolites. *Plant Cell. Environ*, 13, 195-206.
- Watada, A. E., and Qi, L, 1999, Quality of fresh-cut produce. *Postharvest. Biology and Technology*, 15, 201-205.
- William, S. C, 1994, Additives effects of postharvest calcium and heat treatment on reducing decay maintaining quality in apple. *American Society for Horticulture Science*, 119, 49-53.
- Whitaker, J. R, 1994, Polyphenol oxidase. In *Principles of enzymology for the food science*. Marcel Dakker Inc. pp, 543-555.
- White, P. J. and Broadley, M. R, 2003, Calcium in plants. *Annual Botany*. 92, 487-511.
- Wu-Ming, Ch. Chen, H. and Chin, Sh, 1999, Effect of different storage temperatures changes of fruit composition of sugar apple cv. Annona. *Journal of Food Preservation science*. 25, 149-154.
- Zhau, A. and Zisheng, T, 2008, Effect of chitosan coating with nano CaCo3 on postharvest quality and physiology of loquat fruits. *Food Science and Nutrition*, 34(4), 142-145.
- Youwei, Y., Zhang, Sh., Hui, L. and Jinhua, D, 2012, Jujube preservation using chitosan film with nano silicon dioxide. *Journal of Food Engineering*, 113, 408-414.

## Postharvest application of calcium carbonate nanoparticles on enzyme activity and some attributes quality in fresh cut apples varieties Golden Delicious

M. R. Asghari<sup>1\*</sup>, R. Jami<sup>2</sup>, A. R. Farokhzad<sup>3</sup>

Received: 2015.03.09

Accepted: 2015.08.19

**Introduction:** Nowadays, due to mechanization of life, consumers need of food which they spent little time for preparation, So Fresh cut industry is growing rapidly in the world. These products had strong growth since 1940, and in 2013, most sales of fresh cut fruit related to apples, against 21.8 percent. Minimal processing operations include grading, washing, sorting, slicing, chopping and then packaging of fruit or vegetables. Since these operations result in quality loss, due to water loss, softening, microbial contamination, increased respiration, ethylene and tissue browning. To extend the shelf life of fresh cut fruit, some effective techniques including, low temperature, modified atmosphere packaging, nanotechnology and coating have been applied. Nowadays, edible coatings are used for fresh cut fruits to reduce respiration and control physiological changes. Nano-scale ingredients lead to increase surface to volume ratio so increases the activity of the particles and their impact, the other hand use of calcium compounds in the fruit can be caused strength of the cell wall and bridges between pectin polymers in cell wall and cell membrane so the activity of digestive enzymes decreases.

**Materials and methods:** Golden delicious apples were selected for uniform size and appearance in a commercial orchard in Urmia. Fruit disinfected with disinfectant solutions for 10 min. half of the apples in the laboratory before cutting were immersed in nano calcium carbonate solution at concentrations of 0, 0.1, 0.2, and 0.4 % for 4 min and the other half of the fruit after cutting treated with the same concentrations of nano calcium carbonate for 2 minutes. Control fruit were treated with distilled water. Fresh cut were dried at 20 °C for 15 minutes and placed in plastic containers (8 slices per a dish), In Refrigerator equipment at  $1\pm0.5^{\circ}\text{C}$  and relative humidity 90-95% for 20 days.

**Results and discussion:** Fresh cut apples coated with nano calcium carbonate reduced the enzyme activities. So that in treated samples compared to control samples polyphenol oxidase activity was reduced. Also, antioxidant activity and catalase levels were higher than the treated fruit during storage. As a result, fresh cut apples coated with nano calcium carbonate can be used as an easy way to increase the shelf life of apples in cold storage.

**Keywords:** Apple, nano calcium carbonate, fresh-cut fruit, coating, enzyme activity.

1, 2 and 3. Professor, Former MSc student and Assistant Professor, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

(\* corresponding Author Gmail: m.asghari@urmia.ac.ir)



## استخراج عصاره خام از برگ گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) و بررسی توانایی جذب رادیکال آزاد آن

حسین جوینده<sup>۱\*</sup>، وحید سماواتی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۲۳

### چکیده

در این تحقیق، تأثیر عوامل زمان، دما و نسبت حلال به ماده خشک در میزان عصاره خام استخراجی از برگ گیاه پنیرک گونه *Malva neglecta* مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور از روش استخراج با آب داغ و زمان استخراج ۱ تا ۸ ساعت، دمای ۵۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت حلال به ماده خشک ۳ تا ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم استفاده گردید. از روش سطح پاسخ نیز جهت یافتن تأثیر متقابل فاکتورها و برآورد بهترین شرایط فرایند به کمک طرح Box-behnken (BBD) با سه متغیر در سه سطح و ۵ تکرار در نقطه مرکزی استفاده گردید. همچنین ویژگی جذب رادیکال‌های آزاد DPPH، هیدروکسی و سوپراکسید به کمک آزمون‌های شیمیایی بررسی شد. بهینه‌سازی بازده استخراج به کمک روش سطح پاسخ نشان داد که می‌توان با ترکیبی از زمان استخراج ۶ ساعت، دمای استخراج ۹۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت حلال به ماده خشک ۱۹، به بالاترین بازده استخراج عصاره خام (۹/۱۸ درصد) دست یافت. به‌علاوه، نتایج آزمون‌های شیمیایی نشان دادند که عصاره خام استخراجی دارای فعالیت قوی جذب رادیکال‌های آزاد DPPH، هیدروکسیل (OH) و سوپراکسید می‌باشد به‌طوری که توانایی جذب این رادیکال‌های آزاد توسط عصاره خام استخراجی بیشتر از آنتی‌اکسیدان طبیعی اسید آسکوربیک و مصنوعی BHT می‌باشد. براساس یافته‌های این پژوهش، ترکیبات استخراج شده از برگ‌های این گیاه می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان و جاذب رادیکال آزاد معرفی شود و از آن در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی استفاده گردد.

**واژه‌های کلیدی:** *Malva neglecta*، استخراج، عصاره خام، ویژگی آنتی‌اکسیدانی، رادیکال آزاد

### مقدمه

به‌طور خودرو و حداکثر تا ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر می‌روید. مصرف این گیاه برای درمان سرفه، مشکلات تنفسی و سیستم گوارشی تجویز می‌گردد (Baytop, ۱۹۸۴). برگ این گیاه حاوی حدود ۸ درصد موسیلاژ می‌باشد که پس از هیدرولیز، قندهای آرابینوز، گلوکز، رامنوز، گالاکتوز و گالاکتورونیک اسید از آن تولید می‌گردد (صالحی سورمقی، ۱۳۸۷). همچنین برگ آن حاوی مقداری تانن و فلاونوئید به‌همراه قند گلوکز می‌باشد (Güter و Korkmaz, ۲۰۱۲). خواص آنتی-اکسیدانی گونه‌های مختلف پنیرک در نقاط دیگر دنیا توسط برخی محققین گزارش شده است (Mavi و همکاران، ۲۰۰۴؛ Samavati و Manoochehrizade, ۲۰۱۳<sup>a</sup>).

آنتی‌اکسیدان‌ها، موادی طبیعی یا سنتزی هستند که از اکسیداسیون ترکیبات مواد غذایی جلوگیری می‌کنند و از این طریق قابلیت نگهداری آن‌ها را افزایش می‌دهند. از طرف دیگر، این ترکیبات با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد در سیستم‌های بیولوژیکی، مانع از ناهنجاری‌های مختلف بویژه سرطان می‌گردند (Espin و همکاران، ۲۰۰۰). امروزه، همانند سایر ترکیبات مورد استفاده در

پنیرک (*Malva*) گیاهی علفی یک ساله، دوساله یا پایا با خواص شناخته شده دارویی است. گونه‌های مختلف پنیرک همانند *M. M. sylvestris*, *M. parviflora*, *M. montana*, *M. crispata* و *M. neglecta* در کشورهای مختلف دنیا کشت می‌گردد یا به‌طور خودرو رشد می‌کند (Azimova و Glushenkova, ۲۰۱۲). گونه‌ی موجود آن در ایران (*Malva neglecta*) دارای برگ‌هایی دایره‌ای شکل و دندانه‌دار و گل‌هایی بنفش رنگ و کوچک می‌باشد (صالحی سورمقی، ۱۳۸۷). این گیاه هرز در مناطق مختلف ایران همانند مازندران، فارس، لرستان، اصفهان، فارس، کرمان، تهران، سیستان و بلوچستان و خوزستان

۱ و ۲- به ترتیب دانشیار و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

(Email: hosjooy@yahoo.com)

DOI: 10.22067/iftstr.v1395i0.47538

صنعت غذا، استفاده از آنتی اکسیدانهای طبیعی در مقایسه با انواع سنتزی آن مورد توجه بیشتری قرار گرفته است. این درحالیست که به دلیل مشخص شدن عوارض نامطلوب آنتی اکسیدانهای سنتزی BHT و BHA نظیر ایجاد سرطان و آسیب کبدی بر حیوانات آزمایشگاهی (Ebrahimzadeh و همکاران، ۲۰۰۸)، تمایل به استفاده از آنتی اکسیدانهای گیاهی و عصاره استخراجی از آنها در جنبه های مختلف تحقیقاتی و کاربردی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. آنتی اکسیدانها، بویژه ترکیبات دارای بنیان حلقوی فنولی با گروه های OH، با جذب رادیکال آزاد نقش مهمی در پیشگیری از اکسیداسیون ترکیبات مختلف بخصوص چربی ها از خود نشان می دهند (Fennema، ۱۹۹۶). از طرف دیگر، بسیاری از ترکیبات پلی ساکاریدی استخراج شده از گیاهان از چنین ویژگی برخوردارند. تحقیقات نشان داده است که بخش عمده کربوهیدراتها در مواد گیاهی که از انواع پلی ساکاریدها می باشند مکانیسم ناشناخته ای را طی فعالیت آنتی اکسیدانی از خود نشان می دهند. در آزمایش روی حیوانات معلوم گردیده پلی ساکاریدها، بویژه پکتین ها که عمدتاً در بافت های گیاهی یافت می شوند، خاصیت ضدالتهابی، آنتی اکسیدانی و ضددیابتی از خود نشان می دهند و حتی می توانند انسولین خون را تنظیم کنند. پکتین ها در واقع حاوی نسخه خاصی از اسید دی-گالاکتورونیک موسوم به هوموگالاکتورونان هستند که بیشتر خواص آنتی اکسیدانی دارند (طاهری، ۱۳۸۳). به علاوه، ویژگی های آنتی اکسیدانی بالایی در برخی گیاهان و جلبک های دریایی گزارش شده است که این خاصیت به وجود اسیدهای فنولیک (به دو شکل آزاد یا متصل شده به پلی-ساکاریدها) و پلی-ساکاریدهای سولفات شده نسبت داده شده است (Balasundram و همکاران، ۲۰۰۶؛ Qi و همکاران، ۲۰۱۰؛ Costa و همکاران، ۲۰۱۰).

تولید گونه های مختلف اکسیژن فعال، بیش از ظرفیت آنتی-اکسیدانی بدن باعث ایجاد استرس های اکسیداتیو می شود. شواهد نشان می دهد که استرس از عوامل مهم پیری، اختلال در عملکرد مغز، بیماری های کبدی، اختلالات قلبی عروقی، و سرطان می باشد (Zha و همکاران، ۲۰۰۹). در بین گونه های فعال اکسیژن، رادیکال هیدروکسی، فعال ترین رادیکال آزاد می باشد که به کلیه مولکول های بیولوژیک حمله می کند و آنها را وارد چرخه زنجیره ای اکسیداسیون می کند (Barry و Susanna، ۱۹۹۳). رادیکال آزاد DPPH، رادیکال پایداری بوده که دارای بیشینه جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر می باشد. این رادیکال آزاد از جمله منابع محدود رادیکال های پایداری می باشد که به طور گسترده ای در بررسی و ارزیابی توانایی آنتی اکسیدانها در جذب رادیکال های آزاد به کار می رود (Xie و همکاران، ۲۰۱۰). در سیستم های زیستی، آنزیم گزانتین اکسیداز، واکنش اکسیداسیون گزانتین به اسید اوریک را کاتالیز می کند. در طی اکسیداسیون

گزانتین،  $O_2^-$  و  $H_2O_2$  تشکیل می شود (Britigan و همکاران، ۱۹۹۰؛ Wang؛ و همکاران، ۲۰۰۹). در نتیجه، این آنزیم به عنوان منبع مهمی از آنیون سوپراکسید ( $O_2^-$ ) در نظر گرفته می شود. یون سوپراکسید رادیکالی است که با سرعت بالایی با ترکیب NO واکنش داده و اکسید پروکسی نیتريت ( $ONOO^-$ ) تولید می کند (White و همکاران، ۱۹۹۴). در pH فیزیولوژیک، آنیون ( $ONOO^-$ ) و دیگر گونه های فعال نیتروژن در بسیاری از انواع بیماری ها مانند بیماری های قلبی-عروقی شرکت دارند (Pacher و همکاران، ۲۰۰۷).

استخراج ترکیبات عصاره گیاهان به روش های مختلفی انجام می شود، اما استخراج با آب معمول ترین و عمده ترین روش سنتی استخراج ترکیبات عصاره خام گیاهی می باشد (Khodaei و همکاران، ۲۰۱۶). بررسی و بهینه سازی عوامل مؤثر بر میزان استخراج ترکیبات خام عصاره از جنبه اقتصادی و کیفی، مهم و ضروری به نظر می رسد. به طور کلی، بازده استخراج از منابع گیاهی به عوامل مختلفی از جمله زمان استخراج، دمای استخراج، نسبت آب به مواد گیاهی، اندازه ذرات مواد گیاهی و تعداد استخراج ها بستگی دارد (Chen و همکاران، ۲۰۱۲).

روش سطح پاسخ (RSM)، به دلیل استفاده عملی آن در بهینه یابی ها، یک استراتژی کارآمد برای بهینه سازی یک فرآیند چند متغیره است. به کارگیری روش RSM می تواند منجر به تسهیل پیچیدگی روش های آزمایش مورد نیاز برای ارزیابی متغیرهای چندگانه و برهمکنش میان آنها شود. محققان زیادی این روش را برای بهینه سازی شرایط استخراج پلی ساکاریدها، ساپونین، ترکیبات فنولی و ... استفاده کرده اند. به طور کلی، طرح مرکب مرکزی چرخش پذیر ( $CCRD^1$ )، طرح مرکب مرکزی ( $CCD^2$ ) یا طرح باکس بنکن ( $BBD^3$ ) برای مناسب سازی یک چند جمله ای درجه ۲ با حداقل تکنیک مربع، که یک معادله را برای شرح این که چطور متغیرهای آزمون روی پاسخ مورد نظر اثر می گذارند، و همچنین تعیین روابط بین متغیرها، پذیرفته شده است (Singh، ۲۰۱۰).

هدف از این تحقیق بررسی عوامل مؤثر در میزان استخراج ترکیبات عصاره خام از برگ گیاه پنیرک، گونه *Malva neglecta* شامل زمان، دما و نسبت حلال به ماده خشک و ارزیابی ویژگی جذب رادیکال های آزاد DPPH، هیدروکسی و سوپراکسید توسط عصاره خام استخراجی می باشد.

## مواد و روش ها

- 1 Central composite rotatable design
- 2 Central composite design
- 3 Box- Behnken Design

## مواد

گیاه پنیرک گونه *Malva neglecta* از بازار محلی در اهواز خریداری شد و برگ آن با آب به خوبی شسته شد. سپس با آب مقطر آبکشی شد و در دمای حدود ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت با هوا خشک گردید. پس از خشک کردن، به منظور غیرفعال‌سازی آنزیم‌های طبیعی موجود، برگ گیاه در آون در معرض هوای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت قرار گرفت و برگ‌های خشک شده تا زمان استخراج ترکیبات آن در کیسه‌های پلی‌اتیلنی سیاه رنگ در یخچال نگهداری شد. اتانول ۸۰ درصد از شرکت رازی و بافر استات سدیم و استون از شرکت مرک خریداری شدند.

## استخراج عصاره خام از برگ گیاه پنیرک

استخراج عصاره خام از برگ گیاه پنیرک به کمک روش Sun و همکاران (۲۰۱۰) انجام گرفت. به طور خلاصه، ۲۰۰ گرم برگ خشک شده در یک مخلوط‌کن خرد شد و به پودر نرمی تبدیل شد. سپس جهت حذف مواد رنگی، چربی و الیگوساکاریدها، ۳ بار با اتانول ۸۰٪ با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت مخلوط و شستشو شدند.

برگ‌های خرد شده به کمک سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه از مخلوط الکلی جداسازی شد. سپس فرآیند استخراج عصاره خام از ۲۰ گرم نمونه برگ خشک شده با آب داغ در دماهای مختلف (۵۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد)، زمان‌های مختلف استخراج (۱ تا ۸ ساعت) و نسبت‌های مختلف وزنی نسبت حلال به ماده خشک (۳ تا ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم) انجام گردید. از اتانول ۸۰٪ جهت تکمیل فرآیند استخراج و رسوب‌دهی عصاره خام حاصل استفاده شد. ماده رسوب کرده در آون تحت خلا به کمک هوای گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک و توزین گردید و بازده استحصال عصاره خام استخراجی به کمک رابطه زیر تعیین گردید:

$$(1) \quad 100 \times (\text{وزن اولیه پنیرک خشک} / \text{وزن عصاره خام استخراجی}) = \text{درصد راندمان استخراج}$$

## بررسی خصوصیت جذب رادیکال آزاد عصاره خام استخراج شده

## تعیین توانایی جذب رادیکال DPPH

ارزیابی خاصیت جذب رادیکال آزاد عصاره خام استخراج شده از برگ گیاه پنیرک با روش اصلاح شده توسط Tiana و همکاران (۲۰۱۲) انجام گرفت. به طور خلاصه، محلول یک گرم بر لیتر عصاره به ۲ میلی‌لیتر محلول ۸۰۰ میلی‌مول DPPH در الکل ۸۰ درصد اضافه شد و حجم مخلوط توسط الکل ۷۰٪ به ۴ میلی‌لیتر رسانده شد. بعد از به هم زدن زیاد و شدید، مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در محل تاریک نگهداری شد. میزان جذب این مخلوط در طول موج ۵۱۷

نانومتر تعیین گردید. مخلوط مشابهی حاوی آنتی‌اکسیدان مصنوعی BHT و بدون عصاره خام استخراجی به عنوان نمونه شاهد تهیه گردید. میزان جذب کمتر مخلوط واکنش، نشان‌دهنده فعالیت بیشتر جذب رادیکال‌های آزاد می‌باشد. ظرفیت جذب رادیکال DPPH با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید:

$$(2) \quad A_0 = (A_0 - A_1) / A_0 = \text{توانایی جذب}$$

$A_0$ : میزان جذب مخلوط بدون عصاره خام استخراجی در طول موج ۵۱۷ نانومتر  
 $A_1$ : میزان جذب مخلوط حاوی عصاره خام استخراجی در طول موج ۵۱۷ نانومتر

## تعیین توانایی جذب رادیکال‌های هیدروکسیل (OH)

توانایی و قابلیت جذب رادیکال‌های هیدروکسیل عصاره خام استخراج شده از برگ گیاه پنیرک به کمک روش ارائه شده توسط Sun و همکاران (۲۰۱۰) ارزیابی شد. به طور خلاصه، مخلوطی شامل یک میلی‌لیتر محلول ۰/۴۳۵ مولار بریلیانت گرین، یک میلی‌لیتر محلول EDTA و آهن فروس (۹ میلی‌مولار)، یک میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۸/۸ مولار و حجم‌های مختلفی از محلول یک گرم در لیتر عصاره خام استخراجی تهیه گردید. میزان جذب مخلوط بعد از نگهداری مخلوط مذکور در دمای اتاق و در محل تاریک به مدت ۲۰ دقیقه، در طول موج ۶۲۴ نانومتر تعیین گردید. مخلوط مشابهی حاوی اسید آسکوربیک و بدون عصاره خام استخراجی به عنوان نمونه شاهد تهیه شد. توانایی جذب رادیکال‌های هیدروکسیل توسط عصاره خام استخراج شده به کمک رابطه زیر تعیین گردید:

$$(3) \quad A_0 = (A_0 - A_1) / A_0 = \text{توانایی جذب}$$

$A_0$ : میزان جذب مخلوط بدون عصاره خام استخراجی در طول موج ۶۲۴ نانومتر  
 $A_1$ : میزان جذب مخلوط حاوی عصاره خام استخراجی در طول موج ۶۲۴ نانومتر

## ارزیابی توانایی جذب آنیون‌های سوپراکسید

توانایی جذب رادیکال‌های سوپراکسید با روش اسید پیروگالیک انجام شد (Jiang و همکاران، ۲۰۱۰). به طور خلاصه، ابتدا مخلوطی شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر نمکی فسفات (PBS)، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول اسید پیروگالیک ۶ میلی‌مولار، ۴ گرم در لیتر عصاره خام استخراجی و ۰/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ تهیه گردید. مخلوط حاصل در محل تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت نگهداری شد و میزان جذب آن در طول موج ۲۹۹ نانومتر تعیین گردید ( $A_s$ ). مخلوط حاوی اسید آسکوربیک بدون عصاره خام استخراجی به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. آزمایشات در ۳

تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین تکرارها ارائه گردید.  
ظرفیت جذب رادیکال‌های سوپراکسید به کمک رابطه زیر تعیین شد:  
(۴)  $A_0 - (A_S - A_C) / A_0 = \text{ظرفیت جذب رادیکال سوپراکسید}$

$A_S$ : میزان جذب مخلوط بدون عصاره خام استخراجی  
 $A_0$ : میزان جذب مخلوط حاوی اسید پیروگالیک بدون عصاره خام  
استخراجی  
 $A_C$ : میزان جذب مخلوط حاوی عصاره خام استخراجی بدون  
اسید پیروگالیک

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق از روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن (BBD)، با سه متغیر و در سه سطح برای بررسی بهینه‌سازی فرایند استخراج عصاره خام از برگ گیاه پنیرک به کمک نرم افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۸ استفاده شد. زمان استخراج ( $X_1$ )، دمای استخراج ( $X_2$ ) و نسبت حلال به ماده خشک ( $X_3$ ) برای بهینه‌سازی متغیرهای مستقل استخراج انتخاب شدند. بازده استخراج عصاره خام ( $Y$ ) به عنوان پاسخ آزمایش‌ها در نظر گرفته شد. تعداد ۲۰ آزمایش با توجه به طرح BBD انجام گردید (جدول ۱).

جدول ۱ - متغیرهای مستقل و سطوح مورد استفاده از آنها در طرح سطح پاسخ

| سطوح فاکتورها |     |    | متغیرهای مستقل                           |
|---------------|-----|----|------------------------------------------|
| -۱            | ۰   | +۱ |                                          |
| ۵۵            | ۷۵  | ۹۵ | دمای استخراج (درجه سانتی‌گراد)           |
| ۱             | ۳/۵ | ۶  | زمان استخراج (ساعت)                      |
| ۳             | ۱۲  | ۲۱ | نسبت حلال به ماده خشک (میلی‌لیتر بر گرم) |

و ۱۳ میلی‌لیتر بر گرم در نظر گرفته شدند. همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، با افزایش زمان از ۱ تا ۸ ساعت، بازده استخراج عصاره خام افزایش یافت و با افزایش زمان استخراج از ۱ تا ۸ ساعت، بازده استخراج از ۵/۹ تا ۸/۱ درصد افزایش یافت؛ هرچند افزایش بیشتر زمان استخراج به بیش از ۶ ساعت، در افزایش بازده استخراج عصاره خام تأثیر معنی‌داری نداشت. نتایج مشابهی نیز توسط Sun و همکاران (۲۰۱۰) و Liu و همکاران (۲۰۰۶) گزارش شده است. Chen و همکاران (۲۰۱۲) بیان داشتند که تأثیر زمان استخراج بر بازده استخراج عصاره از بافت‌های گیاهی به زمان لازم برای تورم بافت گیاهی، انحلال در حلال و انتشار آن به بیرون از سلول گیاهی وابسته است.

### دمای استخراج

جهت بررسی تأثیر دماهای مختلف بر بازده استخراج عصاره خام از گیاه، فرآیند استخراج در دماهای مختلف (۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) انجام شد (شکل ۲). زمان استخراج و نسبت حلال به ماده خشک به ترتیب ۳/۵ ساعت و ۱۳ میلی‌لیتر بر گرم در نظر گرفته شد. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، با افزایش دمای استخراج، بازده استخراج عصاره خام افزایش یافت. این افزایش تا دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد ادامه یافت و بعد از آن با افزایش دما، بازده استخراج افزایش معنی‌داری نداشت. با توجه به شکل ۲، بیشترین بازده استخراج در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. نتایج مشابهی نیز توسط محققین مختلف گزارش شده است (Jiang, ۲۰۱۱). افزایش ضریب انتشار در دماهای بالاتر باعث افزایش نرخ و میزان خروج ترکیباتی نظیر هیدروکلوئید از برگ گیاه و در

در روش سطح پاسخ، رفتار سیستم براساس برآزش یک معادله چند جمله‌ای درجه دوم برای مجموعه‌ای از داده‌های تجربی بیان می‌شود.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{1 \leq i < j}^k \beta_{ij} X_i X_j \quad (5)$$

که در آن  $Y$  متغیر پاسخ،  $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$  به ترتیب ضریب ثابت، ضریب خطی و ضریب درجه دو و ضریب اثر متقابل هستند.  $X_i$  و  $X_j$  متغیرهای مستقل هستند (Chen و همکاران، ۲۰۱۰). به منظور حصول مدل برای پیش بینی پاسخ (راندمان استخراج) رابطه‌های خطی و چند جمله‌ای درجه دوم بر داده‌های بدست آمده از آزمایش‌ها برآزش شدند. سپس این مدل‌ها مورد تجزیه آماری قرار گرفتند تا مدل مناسب گزینش گردد.

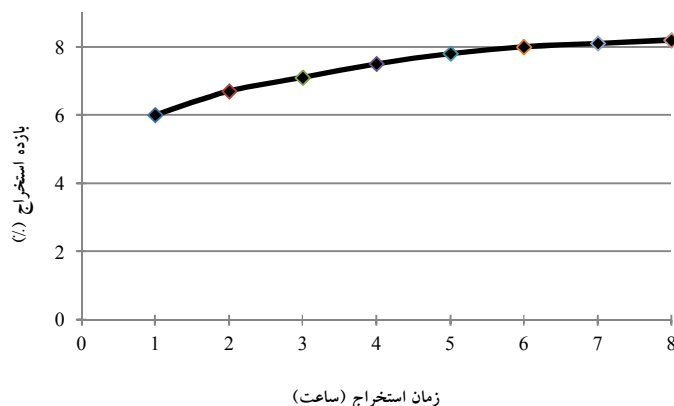
### نتایج و بحث

#### تأثیر شرایط فرایند بر بازده استخراج عصاره خام استخراجی از برگ گیاه پنیرک

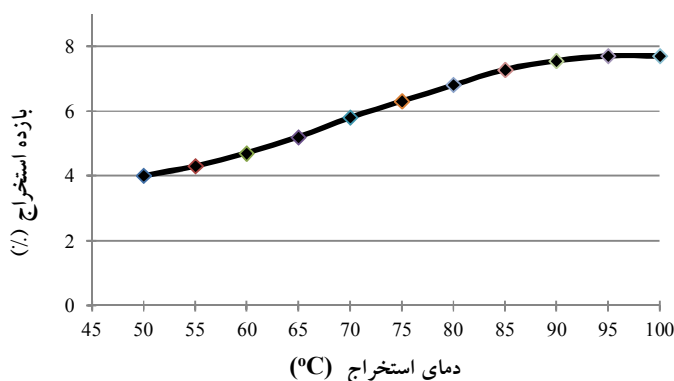
#### زمان استخراج

تأثیر زمان‌های مختلف استخراج (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ ساعت) بر بازده عصاره خام استخراج شده از برگ گیاه پنیرک در شکل ۱ آمده است. برای بررسی تأثیر زمان استخراج، دو متغیر دمای استخراج و نسبت حلال به ماده خشک در نقطه مرکزی (میانگین سطوح پایین و بالا) ثابت نگه‌داشته شدند. به عبارت دیگر، سایر عوامل دمای استخراج و نسبت حلال به ماده خشک به ترتیب ۷۵ درجه سانتی‌گراد

نتیجه بازده استخراج بالاتر می‌شود (Liu و همکاران، ۲۰۰۶). گیاهی در اثر افزایش دما، به سبب افزایش حلالیت آن در حلال می-همچنین گزارش شده است که افزایش بازده استخراج از بافت‌های باشد (Liu و همکاران، ۲۰۰۶).



شکل ۱- تأثیر زمان استخراج بر بازده استخراج عصاره خام



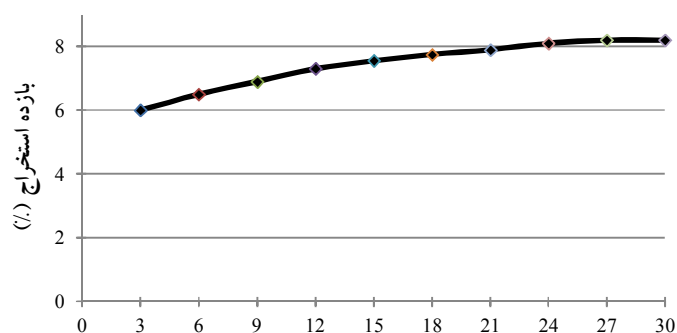
شکل ۲- تأثیر دمای فرآیند بر بازده استخراج عصاره خام

گیاه، بازده استخراج افزایش چندانی نیافت. Volpi (۲۰۰۴) بیان داشت که افزایش بازده استخراج در اثر افزایش نسبت آب به مواد جامد می‌تواند به دلیل سهولت انتشار آب به عنوان حلال به داخل سلول و خروج آسانتر ماده استخراجی در اثر کاهش ویسکوزیته محیط باشد.

بعد از مشخص شدن محدوده متغیرهای مورد بررسی و وارد کردن آن‌ها به نرم‌افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۸، نقشه آزمایش‌ها بدست آمد. طرح کلی آزمایش‌ها شامل ۲۰ آزمون (Run) بود که با ۵ تکرار در نقاط مرکزی انجام گرفت (جدول ۲). سپس تک تک آزمایش‌های پیشنهادی در نقشه آزمایش انجام گرفت و میانگین نتایج آزمون‌ها به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد و سپس تحلیل گردید تا در مرحله بعد این نتایج برای بدست آوردن شرایط بهینه، تجزیه و تحلیل کردند.

#### نسبت حلال به ماده خشک

نسبت آب به مواد جامد در فرآیند استخراج می‌تواند بازده فرآیند را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار دهد (Govender و همکاران، ۲۰۰۵). اگر این نسبت خیلی کم باشد ماده مورد نظر به طور کامل استخراج نشده و در نتیجه بازده استخراج کاهش می‌یابد، و اگر این نسبت خیلی زیاد باشد، باعث افزایش هزینه فرآیند و مشکلات پساب می‌شود (Dang و Yin، ۲۰۰۸). تأثیر نسبت‌های مختلف حلال به ماده خشک (۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱، ۲۴، ۲۷ و ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم) در شکل ۳ نشان داده شده است. این بررسی در شرایط زمان استخراج ۳/۵ ساعت و دمای استخراج ۷۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. همان‌طور که در شکل ۳ دیده می‌شود، با افزایش نسبت آب به برگ خشک شده گیاه از ۳ تا ۲۴، بازده استخراج عصاره خام از ۶/۱ تا ۸/۱ درصد افزایش یافت. با این حال، با افزایش بیشتر نسبت آب به برگ



نسبت حلال به ماده خشک (میلی لیتر بر گرم)

شکل ۳- تأثیر نسبت حلال به ماده خشک بر بازده استخراج عصاره خام

جدول ۲- اثرات متقابل سه گانه متغیرها بر بازده استخراج عصاره خام (%) از برگ گیاه پنیرک

| آزمون | زمان استخراج (h) | دمای استخراج (C) | نسبت حلال به ماده خشک (ml/g) | مقدار واقعی | مقدار پیش بینی شده | مقدار باقی مانده |
|-------|------------------|------------------|------------------------------|-------------|--------------------|------------------|
| ۱     | ۶                | ۷۵               | ۳                            | ۶/۶         | ۶/۵۶۶۶             | ۰/۰۳۳۳۳          |
| ۲     | ۱                | ۷۵               | ۲۱                           | ۸/۴         | ۸/۵۶۶۶             | -۰/۱۶۶۶۶         |
| ۳     | ۳/۵              | ۷۵               | ۱۲                           | ۷/۳         | ۷                  | ۰/۳              |
| ۴     | ۱                | ۹۵               | ۲۱                           | ۶/۲         | ۶/۱                | ۰/۱              |
| ۵     | ۳/۵              | ۵۵               | ۲۱                           | ۶/۵         | ۶/۴۶۶۶             | ۰/۳۳۳۳۳          |
| ۶     | ۳/۵              | ۷۵               | ۲۱                           | ۷/۶         | ۷/۵۶۶۶             | ۰/۰۳۳۳۳          |
| ۷     | ۳/۵              | ۹۵               | ۱۲                           | ۸/۳         | ۸                  | ۰/۳              |
| ۸     | ۱                | ۷۵               | ۱۲                           | ۸/۴         | ۸/۵۶۶۶             | -۰/۱۶۶۶۶         |
| ۹     | ۶                | ۷۵               | ۲۱                           | ۶/۲         | ۶/۴۳               | ۰/۱۶۶۶۶          |
| ۱۰    | ۳/۵              | ۹۵               | ۳                            | ۹/۲         | ۹/۱                | ۰/۱              |
| ۱۱    | ۱                | ۷۵               | ۱۲                           | ۷/۸         | ۷/۸۳۳۳             | -۰/۰۳۳۳۳         |
| ۱۲    | ۶                | ۵۵               | ۱۲                           | ۷/۴         | ۷/۵۶۶۶             | -۰/۱۶۶۶۶         |
| ۱۳    | ۱                | ۵۵               | ۳                            | ۵/۶         | ۵/۵۶۶۶             | ۰/۰۳۳۳۳          |
| ۱۴    | ۶                | ۹۵               | ۳                            | ۷/۸         | ۷/۸۳۳۳             | -۰/۰۳۳۳۳         |
| ۱۵    | ۳/۵              | ۹۵               | ۱۲                           | ۹           | ۹/۹۳۳۳             | ۰/۰۶۶۶۶          |
| ۱۶    | ۳/۵              | ۵۵               | ۲۱                           | ۶/۸         | ۶/۷۶۶۶             | ۰/۰۳۳۳۳          |
| ۱۷    | ۱                | ۷۵               | ۳                            | ۷/۲         | ۷/۲۶۶۶             | -۰/۰۶۶۶۶         |
| ۱۸    | ۶                | ۷۵               | ۱۲                           | ۹/۲         | ۹/۹۱۶۶             | ۰/۲۸۳۳۳          |
| ۱۹    | ۳/۵              | ۷۵               | ۳                            | ۸/۶         | ۸/۵۶۶۶             | ۰/۰۳۳۳۳          |
| ۲۰    | ۱                | ۵۵               | ۳                            | ۶/۴         | ۶/۵۶۶۶             | -۰/۱۶۶۶۶         |

### تجزیه آماری و بررسی کارآمدی مدل

تجزیه واریانس برای ارزیابی اثرات معنی داری متغیرهای فرآیند روی هر یک از پاسخها انجام شد. با انجام تجزیه رگرسیون چند متغیره، مدل های چند جمله ای درجه دوم برای پیش بینی هر یک از پاسخها به دست آمد. برازش داده های به دست آمده برای درصد بازده

استخراج و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره خام استخراجی بدست آمده، براساس مدل چند جمله ای درجه دو صورت گرفت. به منظور تعیین اختلاف معنی دار بین داده ها، از نرم افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۸ استفاده شد. نتایج جداول تجزیه واریانس در مورد بازده استخراج عصاره خام در جدول ۳ مشاهده می شود.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثرات متقابل سه گانه متغیرها بر بازده استخراج عصاره خام از برگ گیاه پنیرک

| منبع تغییرات              | Some of Squares (SS) | DF | Mean Square (MS) | F Value  | F<Probp-value |
|---------------------------|----------------------|----|------------------|----------|---------------|
| Model                     | ۲۷۱/۷۶۱۷             | ۱۴ | ۱۹/۴۱۵۵          | ۳۸۸/۴۱۶  | significant   |
| زمان استخراج (A)          | ۲۷/۹۰۷۵              | ۱  | ۲۷/۹۰۷۵          | ۵۵۸/۴۱۵۹ | significant   |
| دمای استخراج (B)          | ۱۲۶/۱۰۰۸             | ۱  | ۱۲۶/۱۰۰۸         | ۲۵۳۳/۲۱۸ | significant   |
| نسبت حلال به ماده خشک (C) | ۸۹/۱۰۷۵              | ۱  | ۹۸/۱۰۷۵          | ۱۷۸۲/۹۹  | significant   |
| AB                        | ۱/۱۰۲۵               | ۱  | ۱/۱۰۲۵           | ۲۲/۰۶۰۵۱ | significant   |
| AC                        | ۱/۹۶                 | ۱  | ۱/۹۶             | ۳۹/۲۱۸۶۸ | significant   |
| BC                        | ۱/۸۲۲۵               | ۱  | ۱/۸۲۲۵           | ۳۶/۴۶۷۳۷ | significant   |
| A <sup>2</sup>            | ۰/۳۷۷۰۴۵             | ۱  | ۰/۳۷۷۰۴۵         | ۵/۵۴۳۵۴۱ | ns            |
| B <sup>2</sup>            | ۰/۳۰۹۲۰۷             | ۱  | ۰/۳۰۹۲۰۷         | ۶/۱۸۷۰۹  | ns            |
| C <sup>2</sup>            | ۰/۱۵۹۲۰۷             | ۱  | ۰/۱۵۹۲۰۷         | ۳/۱۸۵۶۶۱ | ns            |
| Residual                  | ۰/۴۹۹۷۶              | ۱  | ۰/۴۹۹۷۶          |          |               |
| Lack of Fit               | ۰/۵۵۱۶۷              | ۱۰ | ۰/۵۵۱۶۷          | ۱/۴۹۰۹۹۱ | ns            |
| Pure Error                | ۰/۰۳۷                | ۴  | ۰/۰۱۹            |          |               |
| Cor Total                 |                      | ۲۴ |                  |          |               |

ns: در کلیه سطوح معنی دار نیست.

ترکیبات عصاره خام از بافت گیاه بر اساس مکانیسم انتشار صورت می‌پذیرد و این انتشار وابسته به زمان است. به عبارت دیگر، در ابتدای استخراج خروج ترکیبات با شدت بیشتری رخ می‌دهد و به دلیل گرادیان غلظت بیشتر، نرخ انتقال جرم نیز بیشتر بوده اما رفته رفته با گذشت زمان کاهش می‌یابد.

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، آزمون ضعف برازش مربوط به مدل چند جمله‌ای درجه دوم برازش یافته بر داده‌های پاسخ در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی دار نمی‌باشد. همچنین با توجه به نتایج جدول ۴ و بالا بودن مقادیر R<sup>2</sup> و R<sup>2</sup> تعدیل شده و دقت بالای مدل (Adequate Precision) و از طرف دیگر پایین بودن ضریب تغییرات (C.V.) می‌توان نتیجه گرفت که مدل می‌تواند بخوبی جهت تخمین نتایج آزمایش به کار برده شود.

با توجه به جدول ۳، تجزیه واریانس اثرات خطی زمان استخراج، دمای استخراج و نسبت حلال به ماده خشک و همچنین اثرات متقابل زمان و دمای استخراج، زمان استخراج و نسبت حلال به ماده خشک، دمای استخراج و نسبت حلال به ماده خشک بر بازده استخراج عصاره خام از برگ گیاه پنیرک معنی دار بودند (p<۰/۰۱). به علاوه، اثرات درجه دوم زمان و دمای استخراج در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی دار بودند. همچنین فاکتور اثر درجه دوم نسبت حلال به ماده خشک و فاکتور عدم برازش در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی دار نبود. براساس نتایج تجزیه داده‌ها (جدول ۳)، در بین متغیرهای مورد بررسی، دمای استخراج بیشترین تأثیر و زمان استخراج کمترین تأثیر را بر بازده استخراج داشت. علت این موضوع را می‌توان به خروج بخش عمده ترکیبات عصاره در همان مراحل ابتدایی استخراج نسبت داد. خروج

جدول ۴- پارامترهای آماری حاصل از برازش مدل درجه دوم بر داده‌های تجربی

| Std. Dev. | ۰/۰۷۵ | R-Squared      | ۰/۹۸۹۷ |
|-----------|-------|----------------|--------|
| Mean      | ۷/۶۴  | Adj R-Squared  | ۰/۹۷۹۴ |
| C.V. %    | ۰/۶۴  | Pred R-Squared | ۰/۹۹۸۴ |
| PRESS     | ۰/۴۲  | Adeq Precision | ۲۱/۶۱  |

$$Y = 7/82 + 1/025 X_1 + 3/241667 X_2 + 2/031 X_3 + 0/525 X_1 X_2 - 0/7 X_1 X_3 + 0/675 X_2 X_3 - 0/206 X_1^2 - 0/21833 X_2^2 \quad (6)$$

در این رابطه:

Y: درصد بازده استخراج، X<sub>1</sub>: زمان استخراج، X<sub>2</sub>: دمای استخراج، X<sub>3</sub>: نسبت حلال به ماده خشک

#### مدل سازی بازده استخراج عصاره خام

بهینه‌یابی سطح پاسخ نسبت به روش سنتی بهینه‌یابی تک پارامتر، بخاطر ذخیره زمان، فضا و مواد خام کارآمدتر است. با به-کارگیری تجزیه رگرسیون چندگانه در داده‌های آزمایشی، متغیر پاسخ و متغیرهای مورد بررسی با معادله ۶ به هم مرتبط می‌شوند:

## بهینه‌سازی فرآیند استخراج عصاره خام

شرایط عملیاتی بهینه برای استخراج عصاره خام از برگ گیاه پنیرک با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی به روش سطح پاسخ توسط نرم افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۸ بررسی گردید. بدین منظور در ابتدا شرایط بهینه جهت حصول به حداکثر میزان بازده استخراج عصاره خام توسط نرم‌افزار انتخاب گردید. شرایط بهینه پیشنهاد شده توسط نرم‌افزار شامل زمان استخراج ۶ ساعت، دمای استخراج ۹۵ درجه سانتی‌گراد و نسبت آب به ماده خشک ۱۹ میلی‌لیتر بر گرم بود (شکل ۷). سپس برای بررسی درستی و صحت نتایج حاصل از مدل و نرم افزار، در شرایط آزمایشگاه در نقاط بهینه ارائه شده توسط نرم‌افزار، آزمایشی در ۳ تکرار انجام شد (جدول ۵). طبق جدول ۵ راندمان

تجربی ۹/۲۲ و راندمان پیش‌بینی شده ۹/۱۸ تعیین گردید. همان‌طور که مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری بین نتیجه پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار و نتیجه به‌دست آمده از آزمون تجربی در آزمایشگاه مشاهده نشد. مقادیر مختلفی به‌عنوان حداکثر میزان بازده استخراج از برگ گیاه پنیرک گونه *Malva sylvestris* ۸/۳۷٪ (Samavati و Manoochehrizade، ۲۰۱۳a)، برگ گیاه ناترک (*Dodonaea* var. *angustifolia*) ۹/۴۵٪ (Samavati و Manoochehrizade، ۲۰۱۳b)، قسارچ (*Tricholoma mongolicum*) ۲۴/۱٪ (Wang و همکاران، ۲۰۱۵)، و برگ تمشک‌فرنگی (*Rubus chingii* Hu) ۸/۷۱٪ (Zhang و همکاران، ۲۰۱۵) گزارش شده است.

جدول ۵- بازده استخراج بدست آمده توسط نرم‌افزار و آزمون تجربی در شرایط بهینه

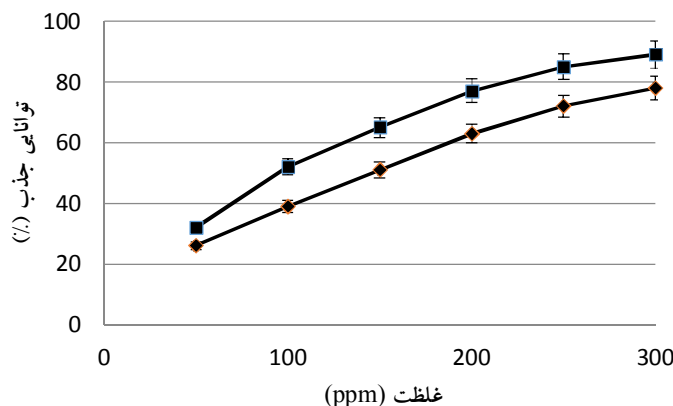
| زمان استخراج<br>(ساعت) | دمای استخراج<br>(درجه سانتی‌گراد) | نسبت حلال به ماده خشک<br>(میلی‌لیتر/گرم) | شرایط بهینه     |              |
|------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------|-----------------|--------------|
|                        |                                   |                                          | راندمان استخراج | پیش‌بینی شده |
| ۶                      | ۹۰                                | ۱۹                                       | ۹/۲۲±۰/۴۷       | ۹/۱۸         |

شناخته شده BHT می‌باشد. در غلظت ۳۰۰ ppm عصاره خام استخراج شده دارای توانایی جذب ۸۹٪ می‌باشد درحالی‌که ماده ضداکسنده مصنوعی BHT دارای توانایی جذب ۷۸٪ می‌باشد. در تحقیقی مشابه که روی عصاره استخراج شده از برگ گیاه پنیرک گونه *sylvestris* انجام گرفت مشخص گردید که عصاره استخراجی در غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام حدود ۸۵٪ توانایی جذب رادیکال DPPH را دارد (Samavati و Manoochehrizade، ۲۰۱۳a). با توجه به نتایج بدست آمده، عصاره خام استخراج شده را می‌توان به‌عنوان یک ماده مناسب برای جذب رادیکال‌های DPPH و احتمالاً ضدسرطان معرفی کرد.

## ویژگی ضداکسندگی عصاره خام استخراج شده

## توانایی جذب رادیکال‌های DPPH

ویژگی و توانایی جذب رادیکال‌های DPPH به‌عنوان تابعی از غلظت عصاره خام استخراج شده (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ ppm) در شکل ۴ نشان داده شده است. از ویژگی ماده ضداکسنده مصنوعی BHT در جذب رادیکال‌های DPPH به‌عنوان شاهد استفاده گردید. همان‌طور که در شکل ۴ دیده می‌شود، با افزایش غلظت عصاره خام استخراج شده، توانایی جذب رادیکال‌های DPPH افزایش می‌یابد. از طرف دیگر، توانایی عصاره استخراج شده از برگ گیاه در جذب رادیکال‌های DPPH بیش از ماده ضداکسنده مصنوعی و

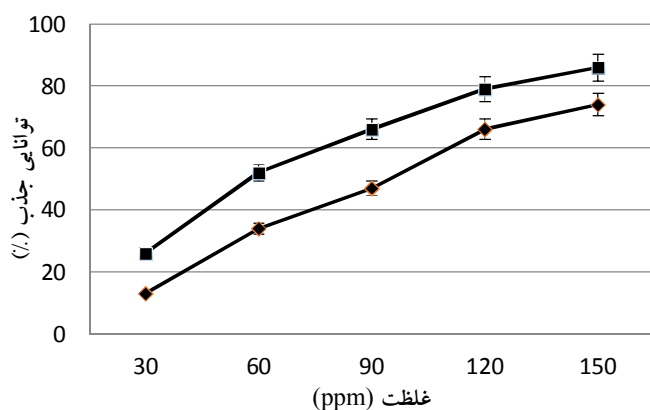


شکل ۴- توانایی جذب رادیکال‌های DPPH (عصاره خام استخراج شده: ■، BHT: ♦)

شده از برگ گیاه، وابسته به غلظت بوده، به طوری که با افزایش غلظت عصاره خام استخراج شده از ۳۰ به ۱۵۰ ppm، توانایی جذب رادیکال‌های هیدروکسیل از ۳۳ به ۸۷٪ (معادل ۱۶۳٪) افزایش می‌یافت. به علاوه مشخص گردید که در غلظت برابر با اسید آسکوربیک (۱۵۰ پی‌پی‌ام)، عصاره خام استخراج شده از برگ گیاه پنیرک از توانایی بالاتری در جذب رادیکال‌های هیدروکسیل برخوردار می‌باشد (۸۷٪ در برابر ۷۴٪). در تحقیقی که توسط Wang و همکاران (۲۰۱۵) انجام گرفت، بیان شد که عصاره استخراج شده از قارچ خوراکی *Tricholoma mongolicum* Imai در غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام دارای حدود ۷۹٪ توانایی جذب رادیکال آزاد هیدروکسیل می‌باشد.

#### توانایی جذب رادیکال‌های هیدروکسیل (OH)

رادیکال‌های هیدروکسیل مهمترین نوع رادیکال‌های آزاد در سیستم‌های زیستی هستند که می‌توانند به تمام انواع سلول‌ها حمله کرده و باعث ایجاد واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون توسط رادیکال‌های آزاد شوند (Barry و Susanna، ۱۹۹۳). توانایی جذب رادیکال‌های هیدروکسیل در غلظت‌های مختلف عصاره خام استخراج شده از برگ گیاه پنیرک (۳۰-۱۵۰ ppm) در شکل ۵ نشان داده شده است. از نمونه حاوی اسید آسکوربیک بدون عصاره خام استخراج شده به عنوان نمونه شاهد استفاده گردید. نتایج نشان داد که خاصیت جذب کنندگی رادیکال‌های هیدروکسیل توسط عصاره خام استخراج

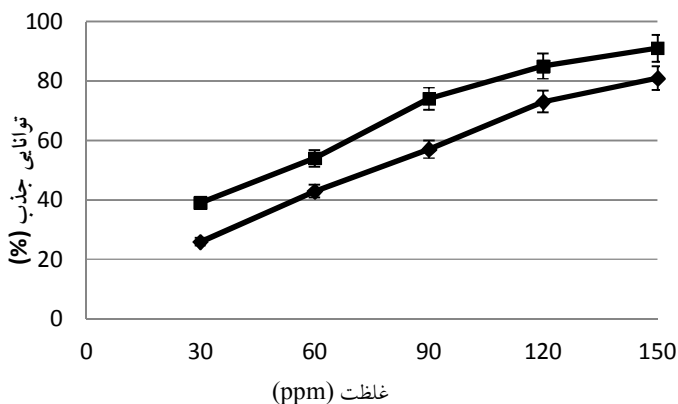


شکل ۵- توانایی جذب رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) (عصاره خام استخراج شده: ■، اسید آسکوربیک: ◆)

دهد. همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت عصاره خام استخراجی از ۳۰ تا ۱۵۰ ppm خاصیت جذب آنیون سوپراکسید ( $O_2^-$ ) از ۳۹ به ۹۱٪ افزایش می‌یابد.

#### توانایی جذب رادیکال‌های سوپراکسید

نتایج نشان داد که عصاره خام استخراجی از برگ گیاه پنیرک پتانسیل جذب رادیکال آنیونی سوپراکسید خوبی را از خود نشان می‌دهد.



شکل ۶- توانایی جذب رادیکال‌های سوپراکسید (عصاره خام استخراج شده: ■، اسید آسکوربیک: ◆)

زمان استخراج، دمای استخراج و نسبت حلال به ماده خشک در بازده استخراج تأثیر معنی‌داری دارند. همچنین نتایج حاصل از آزمایشات شیمیایی نشان داد که عصاره خام استخراجی دارای توانایی و ظرفیت زیادی در جذب رادیکال‌های آزاد DPPH، هیدروکسیل (OH) و سوپراکسید می‌باشد که احتمالاً این خاصیت به وجود اسیدهای فنولیک (به دو شکل آزاد یا متصل شده به پلی‌ساکاریدها) و پلی‌ساکاریدهای سولفات آن مربوط است. نتایج این تحقیق نشان داد که باتوجه به بالاتر بودن توانایی جذب رادیکال‌های آزاد توسط عصاره خام استخراجی از گیاه پنیرک گونه *Malva neglecta* نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی اسید آسکوربیک و مصنوعی BHT، گیاه مذکور می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان و ضدسرطان پیشنهاد شود و کشت این گیاه به عنوان یک گیاه دارویی با ارزش مورد توجه قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی به شماره ۹۱۲/۴۲ است و نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان به دلیل حمایت‌های مالی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

همچنین توانایی عصاره خام استخراجی در جذب رادیکال سوپراکسید از نمونه شاهد یعنی اسید آسکوربیک نیز در تمامی غلظت‌ها بیشتر می‌باشد. با توجه به شکل ۶، توانایی اسید آسکوربیک در جذب رادیکال سوپراکسید با افزایش غلظت ۳۰ تا ۱۵۰ ppm، از مقدار ۳۰ به ۸۱٪ افزایش می‌یابد. در نتیجه عصاره خام استخراجی می‌تواند به‌عنوان منبع مناسبی جهت جذب رادیکال‌های سوپراکسید معرفی شود. همانند نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، Güder و Korkmaz (۲۰۱۲) در پژوهشی در مورد ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قسمت‌های مختلف گیاه *M. neglecta* Wallr قابلیت جذب بالایی از رادیکال سوپراکسید را در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی (BHT و BHA) و طبیعی (آلفا توکوفرول) گزارش نمودند. این محققین مقدار جذب رادیکال سوپراکسید در محلول حاوی غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره استخراج شده از گل و برگ گیاه و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های BHT، BHA و آلفا توکوفرول را به ترتیب ۸۴/۲٪، ۷۵/۴٪، ۶۷/۸٪ و ۵۶/۴٪ و ۴۴٪ گزارش نمودند.

### نتیجه گیری

استخراج عصاره خام از برگ گیاه پنیرک گونه *Malva neglecta* به‌طور موفقیت آمیزی انجام گرفت و نتایج نشان داد که عواملی مانند

### منابع

- صالحی سورمقی، م.ح. ۱۳۸۷. گیاهان دارویی و گیاه درمانی، جلد اول، انتشارات دنیای تغذیه، تهران.
- طاهری، ا. مع. ۱۳۸۳. بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی برخی از بافت‌های گیاهی. سنبله (ماهنامه علمی، فنی، کشاورزی، زیست محیطی)، شماره ۱۳۴، ۱۷-۱۴.
- Azimova, S.S. & Glushenkova A.I. (Eds.), 2012, Lipids, Lipophilic Components and Essential Oils from Plant Sources. Springer, Tashkent, Republic of Uzbekistan, 609-633.
- Balasundram, N., Sundram K., & Samman S., 2006, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191-203.
- Barry, H. & Susanna, C., 1993, Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57, 715-725.
- Baytop, T., 1984, Therapy with Plants in Turkey. İstanbul University Publ., İstanbul, 226-227.
- Britigan, B. E., Pou, S., Rosen, G. M., Lilleg, D. M., & Buettner, G. R., 1990, Hydroxyl radical is not a product of the reaction of xanthine oxidase and xanthine. *Journal of Biological Chemistry*, 263, 17533-17538.
- Chen, Y., Gu, X., Huang, S., Li, J., Wange, X. & Tang, J., 2010, Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46, 429-435.
- Chen, Y., Zhang, J., Li, C., Chen, Z. & Jia, L., 2012, Extraction and in vitro antioxidant activity of mopan persimmon polysaccharide. *Journal of Applied Polymer Science*, 124, 1751-1756.
- Costa, L.S., Fidelis, G.P., Cordeiro, S.L., Oliveira, R.M., Sabry, D.A., Câmara, R.B.G., et al., 2010, Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. *Biomed Pharmacother*, 64(1), 21-28.
- Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F. & Hafezi, S., 2008, Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, 32, 43-9.
- Espin, J. C., Soler-Rivas, C. & Wichers, H. J., 2000, Characterisation of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2-diphenyl- 1- picrylhydrazyl radical. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 648 -656.
- Fennema, O. R., 1996, Food Chemistry. New York: Marcel Dekkert, U.S.A.
- Govender, S., Pillay, V., Chetty, D. J., Essack, S. Y., Dangor, C. M. & Govender, T., 2005, Optimization and

- characterization of bioadhesive controlled release tetracycline microspheres. *International Pharmacy Journal*, 306, 24–40.
- Güder, A. & Korkmaz, H., 2012, Evaluation of in-vitro antioxidant properties of hydroalcoholic solution extracts *Urtica dioica* L., *Malva neglecta* Wallr. And their mixtures. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11 (3), 913-923.
- Jiang, B., Zhang, H., Liu, C., Wang, Y. & Fan, S., 2010, Extraction of water-soluble polysaccharide and the antioxidant activity from *Ginkgo biloba* leaves. *Medicinal Chemistry Research*, 19, 262–270.
- Khodaei, N., Karboune S. & Orsat, V., 2016, Microwave-assisted alkaline extraction of galactan-rich rhamnogalacturonan I from potato cell wall by-product. *Food Chemistry*, 190, 495–505.
- Liang, R. J., 2008, Optimization of extraction process of glycyrrhiza glabra polysaccharides by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 74, 858–861.
- Liu, J., Sun, Y., Liu, L. & Yu, C., 2011, the extraction process optimization and physicochemical properties of polysaccharides from the roots of *Euphorbia fischeriana*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49, 416–421.
- Liu, Z. D., Wei, G. H., Guo, Y. C. & Kennedy, J. F., 2006, Image study of pectin extraction from orange skin assisted by microwave. *Carbohydrate Polymers*, 64, 548–552.
- Mavi, A., Terzi, Z., Özgen, U., Yildirim, A. & Coşkun, M., 2004, Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(5), 702-705.
- Myers, R. H. & Montgomery, R. C., 2002, Response Surface Methodology, Process and Product Optimization using Design Experiment, Wiley, New York.
- Pacher, P., Beckman, J. S. & Liaudet, L., 2007, Nitric Oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiology Review*, 87(1), 315–424.
- Qi, H., Liu, X., Ma, J., Zhang, Q. & Li, Z., 2010, in vitro antioxidant activity of acetylated derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta). *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(23), 2445-2451.
- Samavati, V. & Manoochehrizade, A., 2013a, Polysaccharide extraction from *Malva sylvestris* and its anti-oxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules* 60, 427– 436.
- Samavati, V. & Manoochehrizade, A., 2013b, *Dodonaea viscosa* var. *angustifolia* leaf: New source of polysaccharide and its anti-oxidant activity. *Carbohydrate Polymers*, 98, 199– 207.
- Singh, A., 2010, Optimization of microwave-assisted extraction of antioxidants from potato peels. MSc thesiss, McGill University, Ste Anne De Bellevue, Quebec, Canada.
- Sun, Y., Liu, J. & Kennedy, J. F., 2010, Application of response surface methodology for optimization of polysaccharides production parameters from the roots of *Codonopsis pilosula* by a central composite design. *Carbohydrate Polymers*, 80, 949–953.
- Tiana, Y., Zenga, H., Xuc, Z., Zhenga, B., Lind, Y., Gand, C. & Martin Lo, Y., 2012, Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of polysaccharides recovered from white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Carbohydrate Polymers*, 88 522– 529.
- Volpi, N., 2004, Disaccharide mapping of chondroitin sulfate of different origins by high performance capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography. *Carbohydrate polymers*, 55(3),
- Wang, J., Wang, F., Zhang, Q. B., Zhang, Z. S., Shi, X. L. & Li, P. C., 2009, Synthesized different derivatives of low molecular fucoidan extracted from *Laminaria japonica* and their potential antioxidant activity in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules*, 44, 379–384.
- Wang, J., Zhao, Y., Li, W., Wang, Z. & Shen, L., 2015, Optimization of polysaccharides extraction from *Tricholoma mongolicum* Imai and their antioxidant and anti-proliferative activities. *Carbohydrate Polymers*, 131, 322-330.
- White, R. C., Brock, T. A., Chang, L. Y., Crapo, L. Y., Briscoe, P., Ku, D., et al., 1994, Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 91, 1044–1048.
- Xie, J. H., Xie, M. Y., Nie, S. P., Shen, M. Y., Wang, Y. X. & Li, C., 2010, Isolation chemical composition and antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja. *Food Chemistry*, 119, 1626–1632.
- Ye, C. L. & Jiang, C. J., 2011, Optimization of extraction process of crude polysaccharides from *Plantago asiatica* L. by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 84, 495–502.
- Yin, G. & Dang, Y., 2008, Optimization of extraction technology of the *Lycium barbarum* polysaccharides by Box–Behnken statistical design. *Carbohydrate Polymers*, 74, 603–610.
- Zha, X. Q., Wang, J. H., Yang, X. F., Liang, H., Zhao, L. L., Bao, S. H., et al., 2009, Antioxidant properties of polysaccharide fractions with different molecular masses extracted with hot-water from rice bran. *Carbohydrate Polymers*, 78, 570–575.
- Zhang, T. T., Lu, C. L. Jiang, J. G., Wang, M., Wang, D. M. & Zhu, W., 2015, Bioactivities and extraction optimization of crude polysaccharides from the fruits and leaves of *Rubus chingii* Hu. *Carbohydrate Polymers*, 130, 307-315.

## Extraction of crude extract from *Malva neglecta* leaves and evaluation of its free radical scavenging activities

H. Jooyandeh<sup>1\*</sup>, V. Samavati<sup>2</sup>

Received: 2015.06.15

Accepted: 2015.11.14

**Introduction:** Accumulation of free radicals could lead to permanent oxidative destruction of organisms by attacking macromolecules and organelles of the body, thus causing organism aging, fatigue and degenerative diseases. Therefore, discovering and developing safe and non-toxic natural antioxidants has been an interesting topic in recent decades. Compared to synthetic antioxidants, extracts from plant resources usually have quite stable constructions and great antioxidant activities, and can easily be absorbed without dangerous immunoreactions. Many antioxidant compounds, naturally occurring from plant sources, have been identified as free radicals or active oxygen scavengers. *Malva neglecta* (MN), which is known as Panirak/Tooleh in Iran is an annual and herbaceous plant. The leaves and flowers of MN are used in traditional phytotherapy and in treatment of cough, respiratory system and digestive system problems. The objective of this study was to optimize process conditions of extraction in order to obtain the highest yield from crude extract of MN leaves and identify its antioxidant properties.

**Materials and methods:** Three-variable-three-level Box-Behnken design-response surface methodology (BBD-RSM) with five replications at central point was used to optimize the extracting parameters of crude extract from the MN leaves including extraction time (1-8 h), extraction temperature (50-100°C), and the water/solid ratio (3-30). The ability of extracted materials to scavenge the free radicals of DPPH, OH and super oxide was also evaluated by chemical analysis.

**Results and Discussion:** All three independent variables effected the yield of crude extract of MN leaves. The extraction yield of MN crude extract significantly increased from 5.90% to 8.01% with extraction time varying from 1 h to 6 h. However, the yield was not altered meaningfully, as the extraction time was increased from 6 h up to 8 h. This may be due to degradation of the polysaccharides because of the extended extraction time. The extraction process was performed with temperatures from 50 °C to 100 °C, with the other extraction variables such as ratio of water to raw material and extraction time fixed at 13 ml/g and 3.5 h, respectively. The extraction yield of crude extract increased with increasing extraction temperature and peaked at 7.89 at 100 °C.

Different ratios of water to raw material have considerable effect on extraction yield. In this study, we used ratios of water to raw material from 3 to 30 ml/g, with fixed parameters (extraction time and extraction temperature at 3.5 h and 75 °C, respectively). Extraction yield increased noticeably from 6.10 to 8.10 with ratio of water to material varying from 3 ml/g to 24 ml/g. As extraction time, at the higher experimental levels, as the ratio of water to raw material was increased (from 24 up to 30 ml/g) the yield of crude extract was not changed considerably. Under the appropriate condition of ratio of water to raw material, the crude extract molecules can swell thoroughly, and more compounds could dissolve in water to improve extraction yield.

The determination coefficient ( $R^2 = 0.9897$ ) suggested that the model was valid, implying that 98.97% of the variation could be explained by the fitted model. The adjusted determination coefficient was used to evaluate the correlation between the experimental values and predicted values, and the outcome ( $R^2_{Adj} = 0.9794$ ) suggested that the correlation was significant. The f-value (1.49) for “the lack of fit” indicated that the “lack of fit” was not significant relative to the pure error ( $p > 0.05$ ). The CV for yield of MN leaves was 0.64%, which defined a good reliability of the experimental values. The adequate precision value 21.61 and PRESS 0.42 for our model indicated an appropriate model could be designed. On multiple regression analysis, the quadratic polynomial equation for the independent variables and response variable expressed as follows:

$$Y = 7.82 + 1.025X_1 + 3.241667X_2 + 2.031X_3 + 0.525X_1X_2 - 0.7X_1X_3 + 0.675X_2X_3 - 0.206X_1^2 - 0.21833X_2^2$$

1 And 2. Associate professor and Assistant professor, Department of Food Science & Technology, Ramin Agriculture & Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran

(\*-Corresponding Author E-mail address: hosjooy@yahoo.com)

Where, Y is extraction yield (%); X<sub>1</sub>, extraction time (h); X<sub>2</sub>, extraction temperature; and X<sub>3</sub>, ratio of water to raw material (ml/g)

Statistical analysis of the results showed that the optimal conditions for higher extraction yield were extraction time: 6 h, extraction temperature: 90°C, and the ratio of water to raw material: 19. Under these conditions, the experimental yield was  $9.22\% \pm 0.47\%$ , which well matched the predicted value (9.18%), under these conditions; the experimental yield was 9.18%.

Furthermore, results obtained from chemical analysis showed that DPPH, OH and super oxide scavenging of MN crude extract increased rapidly with increasing of its concentration. DPPH scavenging rate of the crude extract was more than BHT standard (89% vs. 78%) at their maximum equivalent concentration (300 ppm). Furthermore, OH and super oxide scavenging ability of MN crude extract (87% and 91%, respectively) were significantly more than ascorbic acid standard solutions (74% and 81%, respectively) at their highest experimental concentrations (150 ppm). Based on our results, components extracted from *Malva neglecta* leaves may introduce as an antioxidant and free radical scavenger. This study could help food industries to add a new source of hydrocolloid with certain functionality as an alternative additive in different foods, cosmetic and pharmaceutical products.

**Keywords:** *Malva neglecta*; Extraction; Crude extract; Antioxidant property; Free radical.

## تغییرات خصوصیات عملکردی و پایداری پروتئین‌های سویای متصل شده به دکستران با استفاده از واکنش طبیعی مایلارد

ساره بوستانی<sup>۱</sup>، مرضیه موسوی نسب<sup>۲</sup>، محمود امینلاری<sup>۳\*</sup>، مهرداد نیاکوثری<sup>۴</sup>، غلامرضا مصباحی<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۶

### چکیده

در این تحقیق پروتئین‌های ایزوله سویا با دکستران از طریق واکنش طبیعی مایلارد کانژوگه شد. الگوی الکتروفورز نشان داد کانژوگه‌های پروتئین- پلی ساکارید شکل گرفته‌اند. اندازه‌گیری شدت قهوه‌ای شدن و میزان جذب UV نتایج الکتروفورز را تأیید کرد. بررسی خصوصیات عملکردی پروتئین‌های نشان داد که پایداری حرارتی، حلالیت و خصوصیات امولسیفایری پروتئین‌های سویا با کانژوگه شدن بهبود یافته است. پایداری نوشیدنی سویای تولید شده با پروتئین‌های کانژوگه در مقابل فرایند حرارتی و در طول زمان نگهداری در مقایسه با نوشیدنی سویای تهیه شده بر پایه پروتئین‌های غیرکانژوگه افزایش یافت. در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که امکان استفاده از واکنش مایلارد به‌عنوان راهی برای تهیه کانژوگه‌های پروتئین‌های سویا-دکستران با خصوصیات عملکردی و پایداری بهتر وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: پایداری، خصوصیات عملکردی، سویا، واکنش مایلارد

### مقدمه

پروتئین‌های پرکاربرد همانند سایر منابع پروتئینی به‌علت ناپایدار بودن در برابر حرارت و سایر عوامل آسیب‌رسان در فرآیندهای غذایی همواره با مشکلاتی در صنعت روبرو بوده است (Endres, 2001, Diftis and Kiosseoglou, 2006).

به‌منظور بهبود پایداری و خواص عملکردی پروتئین‌ها، تیمارهای گوناگون شیمیایی، فیزیکی و آنزیمی بر روی آن‌ها صورت می‌گیرد، به‌علت مخاطرات روش‌های شیمیایی برای سلامتی و هزینه‌بر بودن روش‌های اصلاح آنزیمی و فیزیکی، تکنولوژیست‌ها به استفاده از روش‌های کم‌خطر، کم‌هزینه و طبیعی برای اصلاح پروتئین‌های متماثل شده‌اند (Dickinson, 2003). پروتئین‌ها می‌توانند به‌صورت کوالانسی و غیرکوالانسی با سایر ماکرومولکول‌ها<sup>۲</sup> متصل شوند. یکی از روش‌های جدید اصلاح پروتئین‌ها که نیازی به واکنشگر شیمیایی ندارد، کم‌هزینه و کاملاً طبیعی است، اصلاح با استفاده از واکنش مایلارد می‌باشد که بر اساس ایجاد پیوند با سایر ملکول‌ها می‌باشد، در این واکنش اتصال کوالانسی میان گروه‌های آمین آزاد پروتئین و گروه کربونیلی پلی‌ساکارید<sup>۳</sup> تحت شرایط کنترل شده رطوبت، حرارت، pH، نسبت مناسب واکنشگرها و غیره صورت می‌پذیرد (Kato et al, 1991).

پروتئین‌ها نقش اساسی در سیستم‌های بیولوژیکی و غذایی به‌عهده دارند و اغلب در برابر حلال‌های آلی، حرارت و سایر عوامل تخریب‌کننده حساس می‌باشند که استفاده از این ماکرومولکول‌های بی‌نظیر را در صنایع غذایی، طی سالیان با چالش‌های گوناگونی مواجه کرده است. ناپایداری پروتئین‌ها در سیستم‌های غذایی، نداشتن خصوصیات قابل انتظار پس از فرآیندهای غذایی و مسائلی از این دست، سبب شده است که راه کارهایی به‌منظور بهبود خصوصیات عملکردی پروتئین‌ها اندیشیده و توسط محققان به‌کار گرفته شود. سویا به‌عنوان یکی از مهمترین منابع پروتئینی به‌علت دارا بودن ارزش غذایی بالا و خصوصیات عملکردی بی‌نظیرش شناخته شده و تاکنون محصولات مختلفی از سویا به بازار ارائه شده است. استفاده از این

۱، ۴ و ۵- به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز.

۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی و گروه پژوهشی آبریان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز

۳- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی و گروه بیوشیمی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز.

(\* - نویسنده مسئول: (Email: aminlari@shirazu.ac.ir

DOI: 10.22067/ijfst.v1395i0.39329

۲، ۳، ۴ و ۶ و ۸ روز در دمای ۶۰ درجه سانتی-گراد قرار گرفت تا کانژوگه شدن رخ دهد، نمونه شاهد بدون دکستران و در شرایط کاملاً مشابه تهیه شد.

### الکتروفورز<sup>۶</sup> SDS-PAGE

برای تأیید تشکیل کانژوگه های پروتئین-پلی ساکارید، الکتروفورز SDS-PAGE مطابق روش (Laemmli 1970) و با کمی تغییرات صورت پذیرفت. ژل افقی الکتروفورز با ۳ درصد ژل متراکم کننده و ۱۰ درصد ژل جداکننده تهیه شد و دستگاه الکتروفورز دو طرفه بيو راد ساخت سنگاپور مورد استفاده قرار گرفت. نمونه به غلظت ۲ میلی گرم در ۱ میلی لیتر در بافر نمونه مخلوط و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی-گراد به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شد و در هر چاهک ۲۰ میکرولیتر نمونه تزریق شد. میزان جریان الکتریسته روی ۲۵ میلی آمپر تنظیم شد و در انتها رنگ آمیزی در محلول محتوی کوماسی برلیانت بلو و متانول و رنگ زدایی در محلول محتوی استیک اسید و متانول صورت پذیرفت.

### اندازه گیری شدت قهوه ای شدن

به منظور تعیین پیشرفت کانژوگه شدن ارزیابی تغییرات رنگی با استفاده از اندازه گیری میزان قهوه ای شدن صورت گرفت. نمونه ها به غلظت ۰/۲ درصد پروتئین در SDS<sup>۷</sup> ۱ درصد تهیه شدند و میزان قهوه ای شدن با اندازه گیری میزان جذب در ۴۲۰ نانومتر تعیین شد (Li و همکاران، ۲۰۰۹).

### اندازه گیری جذب UV

اندازه گیری میزان جذب در ناحیه UV مطابق روش Lertittikul و همکاران (۲۰۰۷) و با کمی تغییرات انجام شد. ابتدا نمونه ها به غلظت ۰/۲ درصد پروتئین در SDS ۱ درصد تهیه شدند و میزان جذب در طول موج ۲۹۴ نانومتر خوانده شد، عدد خوانده شده به عنوان معیاری از میزان کانژوگه شدن محسوب شد و افزایش میزان جذب نشان از تشکیل بیشتر کانژوگه ها می باشد.

### اندازه گیری حلالیت پروتئین

اندازه گیری حلالیت نمونه ها در pH های ۳، ۵، ۷ و ۹ مطابق روش Liu و همکاران (۲۰۱۲)، صورت پذیرفت. ابتدا تعیین میزان پروتئین کل به روش کدال انجام شد و برای اندازه گیری پروتئین های موجود در مایع فوقانی از روش لوری استفاده شد و مطابق فرمول زیر

مطالعات مختلفی در رابطه با اصلاح و بهبود خصوصیات عملکردی پروتئین های سویا با کانژوگه شدن صورت گرفته است، Qi و همکاران (۲۰۰۹) اقدام به کانژوگه کردن پروتئین سویا با دکستران کردند و طی آن افزایش ویژگی های امولسیون کنندگی و افزایش پایداری حرارتی مشاهده شد. Mu و همکاران (۲۰۱۰) اقدام به کانژوگه کردن پروتئین ایزوله شده سویا و صمغ عربی کردند و طی آن حلالیت و خصوصیات امولسیفایری بهبود یافت. Babiker و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که کانژوگه کردن پروتئین سویا با گالاکتومانان به طور قابل ملاحظه ای آلرژی زایی<sup>۱</sup> را کاهش می دهد. Usui و همکاران (۲۰۰۴) اقدام به کانژوگه کردن پروتئین های سویا با کیتوزان کردند و طی آن فعالیت ضد میکروبی کانژوگه در مقایسه با شاهد افزایش یافت. بوستانی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که خصوصیات عملکردی پروتئین های سویا از طریق کانژوگه شدن با مالتودکسترین بهبود می یابد.

با وجود پژوهش های متعدد انجام شده در زمینه بهبود پایداری و خصوصیات عملکردی پروتئین های سویا، مستندات کمی در رابطه با بررسی خصوصیات محصول تولید شده از پروتئین های کانژوگه می باشد. لذا هدف این مطالعه اصلاح پروتئین ها از طریق واکنش مایلارد و تولید نوشیدنی بر پایه پروتئین های کانژوگه شده و بررسی پایداری محصول نهایی در مقابل فرایند حرارتی<sup>۲</sup> و در طول زمان نگهداری می باشد.

## مواد و روش ها

### مواد

ایزوله پروتئینی سویا<sup>۳</sup> (حاوی ۹۰ درصد پروتئین بر مبنای خشک) ساخت چین و دکستران<sup>۴</sup> با وزن ملکولی ۶۴۰۰۰-۷۶۰۰۰ دالتون (از شرکت سیگما آمریکا) تهیه شد، مواد مورد استفاده برای تهیه نوشیدنی از بازار محلی و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت های معتبر مواد آزمایشگاهی تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

### کانژوگه کردن پروتئین های سویا با دکستران

ابتدا پروتئین ایزوله سویا و دکستران به نسبت ۱ به ۴ در بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH: ۸/۵ کاملاً مخلوط و سپس توسط خشک کن انجمادی<sup>۵</sup> به پودر تبدیل شد، پودر حاصل در حضور برمید پتاسیم اشباع (رطوبت نسبی ۷۹٪) در دسیکاتور و در زمان های ۰، ۱،

1 Allergenicity

2 Thermal processing

3 Soy protein isolate (Pingdingshan tianjing plant albumen CO.,LTD)

4 Dextran

5 Freeze dryer

6 Sodium-dodecyl-sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

7 Sodium-dodecyl-sulphate

درصد حلالیت محاسبه گردید.

( $100 \times \text{میزان نیتروژن نمونه} / \text{میزان نیتروژن در مایع فوقانی}$ ) = درصد حلالیت

### اندازه گیری خصوصیات امولسیفیری

فعالیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون مطابق روش (Pearce and Kinsella 1978) اندازه گیری شد. بدین صورت که ابتدا یک میلی لیتر روغن ذرت به ۳ میلی لیتر نمونه به غلظت ۱۰۰ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۱ مولار با pH معادل ۷/۴ افزوده و کاملاً مخلوط شد، سپس با هموژنایزر با دور ثابت به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط هموژنیزه شد. ۰/۱ میلی لیتر از امولسیون تهیه شده در فواصل زمانی ۰ تا ۱۰ دقیقه برداشته و ۵ میلی لیتر سدیم دودسیل سولفات ۰/۱ درصد به آن اضافه و بلافاصله جذب نوری آن‌ها در طول موج ۵۰۰ نانومتر تعیین شد و منحنی مربوطه بر اساس میزان جذب و مدت زمان ۱۰ دقیقه رسم شد. فعالیت امولسیون کنندگی از طریق اندازه گیری میزان جذب بلافاصله پس از تشکیل امولسیون محاسبه شد (میزان جذب در زمان صفر). پایداری امولسیون تشکیل شده نیز با تعیین مدت زمانی که طول می کشد تا میزان کدورت اولیه امولسیون به نصف کاهش یابد، از روی منحنی جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر و در مدت ۱۰ دقیقه محاسبه گردید.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به منظور آنالیز آماری داده‌ها و بررسی اطلاعات بدست آمده از آزمون‌های مختلف از طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید. آزمون‌ها حداقل در سه تکرار انجام شده و سپس میانگین و انحراف معیار بدست آمد. به منظور تعیین وجود اختلاف بین میانگین اعداد (سه تکرار هر آزمایش)، از آنالیز واریانس و برای گروه بندی آنها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد. در تمام مراحل، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS صورت پذیرفت.

### نتایج و بحث

#### الکتروفورز

الگوی الکتروفورز نمونه‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است، در ستون شماره ۱ باندهای پروتئینی مربوط به گلوبولین‌های 7S و 11S به خوبی مشخص است و با افزایش زمان گرمخانه گذاری (ستون‌های ۲ تا ۷) باعث ظاهر شدن تدریجی یک باند کشیده، وسیع و متراکم در ابتدای ژل که مربوط به اجزاء با وزن مولکولی بالای تشکیل شده در طی واکنش مایلارد می‌باشد، می‌شود، در این نمونه‌ها پروتئین‌هایی با حرکت الکتروفورتیکی کمتر از پروتئین ایزوله سویا مشاهده می‌شود که بصورت باندهای گسترده و وسیع دیده شده و با گذشت زمان، این باندها گسترده‌تر می‌شوند و همزمان باندهای مربوط به پروتئین سویا ضعیف‌تر و کم رنگ‌تر می‌شود و به نظر می‌رسد بیشترین کانژوگه شدن پس از ۸ روز گرمخانه گذاری رخ داده است (بوستانی و همکاران، ۱۳۹۵، Kato et al 1991, Babiker et al 1998, Kato 2002, Alahdad و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند، با افزایش زمان گرمخانه گذاری واکنش مایلارد به منظور کانژوگه کردن لیپوزیم با دکستران از زمان صفر تا یک هفته شدت باندهای اصلی پروتئینی کاهش یافته و همزمان گستردگی باندهای کانژوگه‌ها افزایش می‌یابد. Aminlari و همکاران (۲۰۰۵) با تهیه کانژوگه‌های لیپوزیم - دکستران و کازئین - دکستران گزارش کردند افزایش زمان

#### تهیه نوشیدنی سویا

به منظور خارج سازی دکستران آزاد، پروتئین‌های سویای کانژوگه شده، توسط سولفات آمونیوم اشباع با سانتریفوژ در دور ۱۵۰۰×g به مدت ۱۵ دقیقه رسوب داده شد، رسوب حاصل چندبار در آب مقطر کاملاً شسته و لیوفیلیزه گردید و سپس به منظور خارج سازی یون‌های آمونیوم و سولفات موجود در نمونه اصلاح شده به مدت ۴۸ ساعت در برابر آب مقطر دیالیز گردید. نمونه شاهد نیز که در شرایط مشابه گرمخانه گذاری شده بود، به منظور حداقل کردن خطای آزمون، تحت تیمار با آمونیوم سولفات قرار گرفت و دیالیز گردید. برای تهیه نوشیدنی پروتئین‌های ایزوله سویا (یک نمونه حاوی پروتئین‌های ایزوله سویای طبیعی و یک نمونه حاوی پروتئین‌های ایزوله سویای گلیکوزیله شده) به میزان ۵٪ به همراه ۲٪ مالتو دکسترین، ۱٪ پور زنجبیل، ۲۵٪ صمغ عربی، ۱٪ نمک، ۳٪ ساکاروز و آب کاملاً مخلوط شد، سپس به دمای ۶۵-۷۰ درجه سانتی گراد رسید و هموژن گردید (Damodaran, 1996, Touré et al, 2009).

#### بررسی پایداری پروتئین‌ها در نوشیدنی

در ادامه به منظور ارزیابی پایداری حرارتی نمونه‌های نوشیدنی سویا، نمونه‌های نوشیدنی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۷۵ درجه

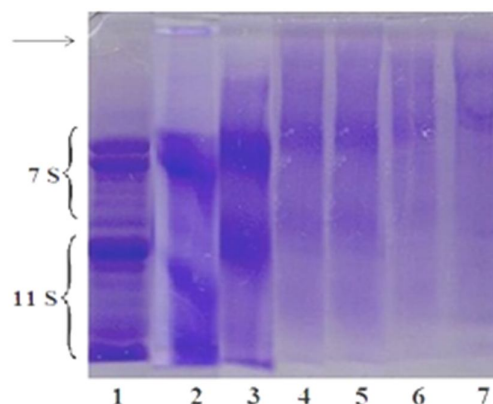
### شدت قهوه‌ای شدن

نتایج حاصل از اندازه‌گیری شدت قهوه‌ای شدن در شکل ۲ نشان داده شده است. مطابق نمودار از همان زمان‌های اولیه گرمخانه‌گذاری میزان جذب در مقایسه با نمونه شاهد افزایش شدیدی یافته که گویای شکل‌گیری کانژوگه‌های پروتئین-پلی‌ساکارید می‌باشد. با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری شدت قهوه‌ای شدن افزایش می‌یابد و بیشترین میزان جذب در نمونه ۸ روز گرمخانه‌گذاری شده مشاهده می‌شود. Li و همکاران (۲۰۱۳) و (۲۰۰۹) نتایج مشابهی مبنی بر رابطه بین افزایش میزان قهوه‌ای شدن و تشکیل کانژوگه‌ها ارائه کردند.

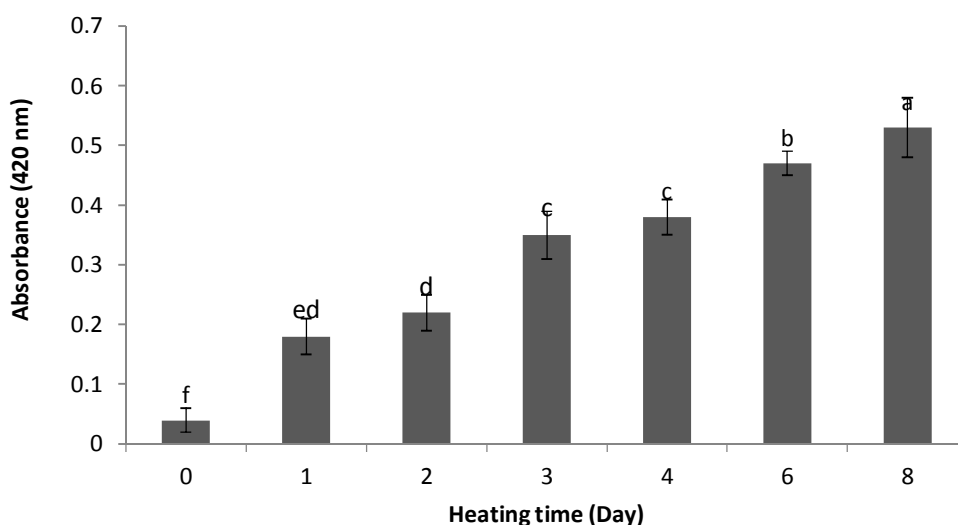
### تغییرات میزان جذب UV

تعیین میزان جذب در طول موج ناحیه UV یکی دیگر از راه‌های تشخیص کانژوگه شدن می‌باشد، ترکیبات حد واسط حاصل از واکنش مایلارد از جمله دی و پلی‌کربونیل جذب بالایی در این ناحیه دارند (Lertittikul et al, 2007, Ajandouz et al, 2008). مطابق نتایج شکل ۳ با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری میزان جذب در این ناحیه افزایش یافته که تأییدی بر تشکیل کانژوگه‌های حاصل از واکنش مایلارد می‌باشد. Ajandouz و همکاران (۲۰۰۸) با کانژوگه کردن گلوکوز و پروتئین‌های سرم آلبومین گاوی و کازئین، Lertittikul و همکاران (۲۰۰۷) با کانژوگه کردن پروتئین پورسین پلاسما با گلوکوز نتایج مشابهی مبنی بر افزایش میزان جذب در ناحیه UV گزارش کردند.

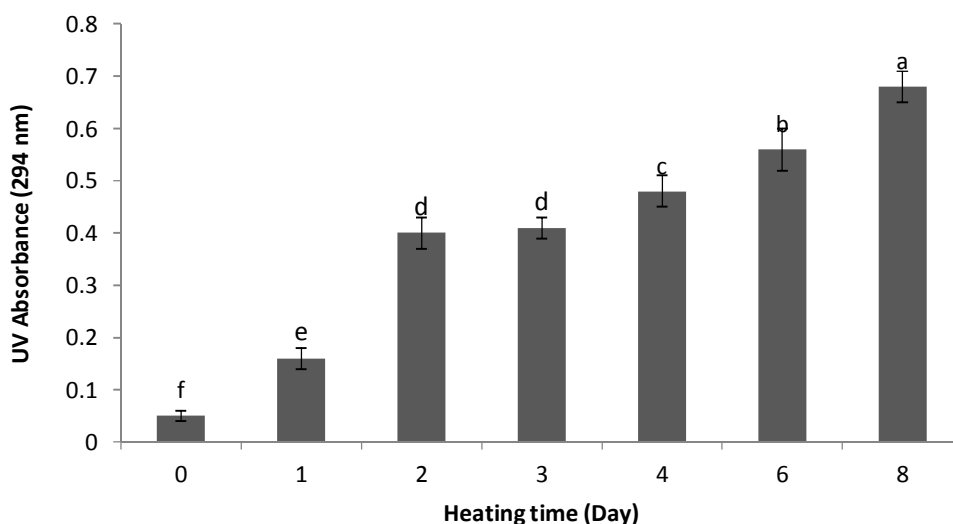
گرمخانه‌گذاری منجر به تشکیل کانژوگه‌های با وزن ملکولی متفاوت در ابتدای ژل جداکننده می‌شود. Yadav و همکاران (۲۰۱۲) با کانژوگه کردن پروتئین شیر و صمغ فیبر ذرت نتایج مشابهی مبنی بر تأثیر زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان کانژوگه‌شدن گزارش کردند.



شکل ۱- الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سویای کانژوگه شده با دکستران در دمای ۶۰ °C و pH ۸/۵ و زمان‌های مختلف. (شماره ستون‌ها به ترتیب: ۱= نمونه کنترل (پروتئین‌های سویا)، ۲= نمونه کانژوگه شده به مدت ۱ روز، ۳= نمونه کانژوگه شده به مدت ۲ روز، ۴= نمونه کانژوگه شده به مدت ۳ روز، ۵= نمونه کانژوگه شده به مدت ۴ روز، ۶= نمونه کانژوگه شده به مدت ۶ روز، ۷= نمونه کانژوگه شده به مدت ۸ روز)



شکل ۲- شدت قهوه‌ای شدن در زمان‌های مختلف گرمخانه‌گذاری (هر ستون نمایانگر میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای سه تکرار می‌باشد و حروف لاتین نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنادار می‌باشد)

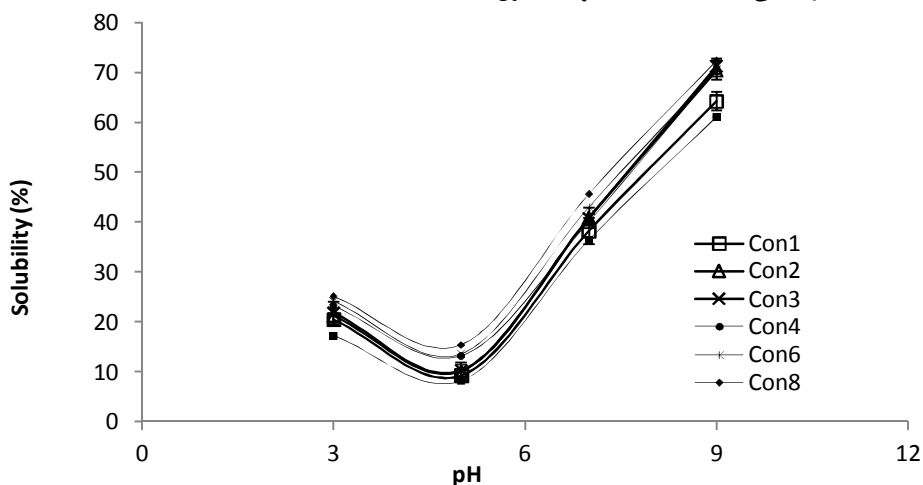


شکل ۳- میزان جذب در ناحیه UV در زمان‌های مختلف گرمخانه‌گذاری (هر ستون نمایانگر میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای سه تکرار می‌باشد و حروف لاتین نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنادار می‌باشد)

بطور معناداری افزایش می‌یابد. Chiu و همکاران (۲۰۰۹) و Liu و همکاران (۲۰۱۲) نتایج مشابهی مبنی بر بهبود حلالیت پروتئین‌ها با کائوگه شدن مشاهده کردند. کائوگه شدن با پلی‌ساکارید هیدروفیل و آبدوست، ارتباط بین پروتئین و ملکول آب را بهبود بخشیده و در نتیجه باعث افزایش حلالیت پروتئین می‌شود (Babiker *et al*, 1998, Chiu *et al*, 2009, Liu *et al*, 2012).

#### تأثیر کائوگه شدن بر حلالیت پروتئین‌ها

نمودار معمول تغییر حلالیت پروتئین‌های سویا در مقابل تغییرات pH محیط به صورت یک منحنی U شکل است و پایین‌ترین نقطه این منحنی بین مقادیر pH ۴ و ۵ می‌باشد که نشان‌دهنده نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌های سویا در این محدوده می‌باشد (Babiker *et al*, 1998). با گلیکوزیله کردن پروتئین‌های سویا مطابق نمودار ۴، مشاهده می‌شود که حلالیت در تمامی pHها نسبت به نمونه کنترل



شکل ۴- درصد حلالیت پروتئین سویای شاهد و کائوگه‌ها در pHهای مختلف و در زمان‌های مختلف گرمخانه‌گذاری (نمودارها نمایانگر میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای سه تکرار می‌باشد). Con1: نمونه گرمخانه‌گذاری شده به مدت ۱ روز، Con2: نمونه گرمخانه‌گذاری شده به مدت ۲ روز، Con3: نمونه گرمخانه‌گذاری شده به مدت ۳ روز، Con4: نمونه گرمخانه‌گذاری شده به مدت ۴ روز، Con6: نمونه گرمخانه‌گذاری شده به مدت ۶ روز، Con8: نمونه گرمخانه‌گذاری شده به مدت ۸ روز، control: نمونه پروتئین‌های سویای شاهد

## تأثیر گلیکوزیله شدن بر خصوصیات امولسیفایری

شدن باعث بهبود خصوصیات امولسیفایری می شود و با افزایش زمان گرمخانه گذاری و پیشرفت کانژوگه شدن، روند بهبود این خصوصیات بیشتر می شود.

نتایج حاصل از فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون در جدول ۱ گزارش شده است، همان طور که مشاهده می شود، کانژوگه

جدول ۱- خصوصیات امولسیفایری پروتئین های سویا

| نمونه ها                        | فعالیت امولسیفایری (A <sub>500</sub> ) | پایداری امولسیون (min)  |
|---------------------------------|----------------------------------------|-------------------------|
| پروتئین های سویا                | ۰/۴۱±۰/۰۳ <sup>c</sup>                 | ۶/۳۵±۰/۱۹ <sup>b</sup>  |
| کانژوگه ۱ روز گرمخانه گذاری شده | ۰/۵۳±۰/۰۴ <sup>d</sup>                 | ۶/۸۳±۰/۱۱ <sup>b</sup>  |
| کانژوگه ۲ روز گرمخانه گذاری شده | ۰/۶۴±۰/۰۳ <sup>c</sup>                 | ۷/۳۵±۰/۴۳ <sup>ab</sup> |
| کانژوگه ۳ روز گرمخانه گذاری شده | ۰/۶۲±۰/۰۵ <sup>c</sup>                 | ۷/۲۴±۰/۳۷ <sup>ab</sup> |
| کانژوگه ۴ روز گرمخانه گذاری شده | ۰/۸۶±۰/۰۶ <sup>b</sup>                 | ۸/۱۶±۰/۲۴ <sup>a</sup>  |
| کانژوگه ۶ روز گرمخانه گذاری شده | ۱/۰۱±۰/۰۸ <sup>a</sup>                 | ۸/۵۸±۰/۳۱ <sup>a</sup>  |
| کانژوگه ۸ روز گرمخانه گذاری شده | ۱/۱۲±۰/۰۷ <sup>a</sup>                 | **                      |

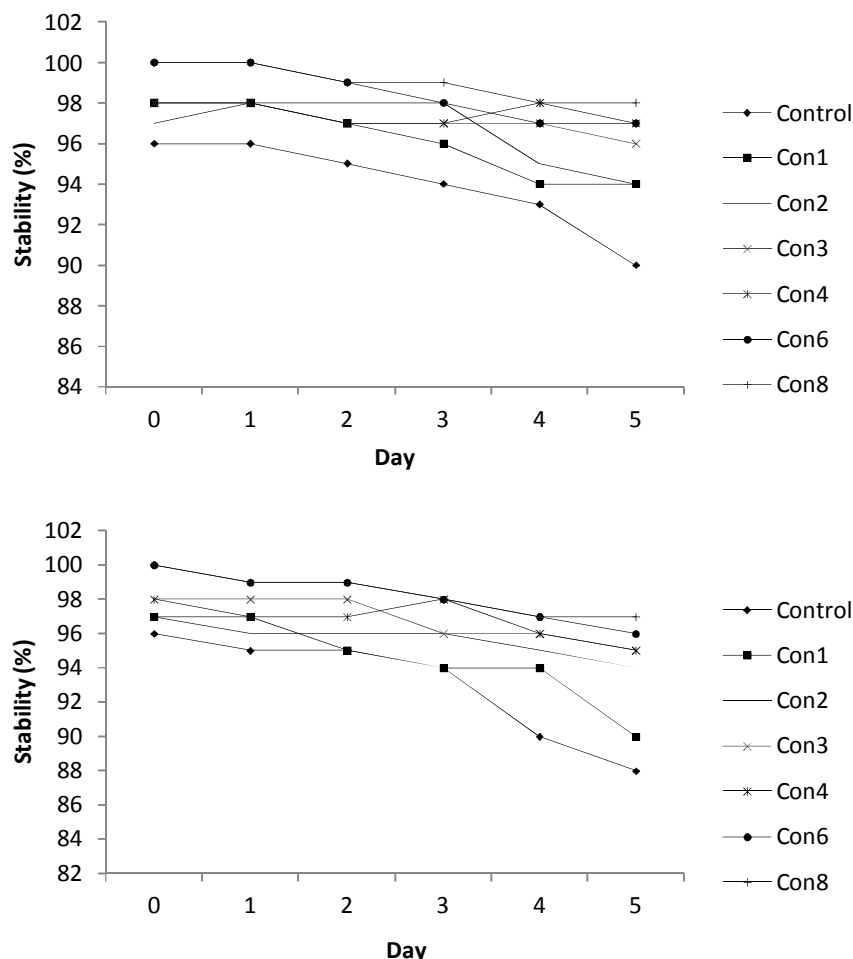
\* اعداد موجود در جدول میانگین سه تکرار ± انحراف معیار و حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد  
\*\* امولسیون بعد از گذشت ده دقیقه دو فاز نشد.

درصد)، پروتئین های سویا در مقابل عوامل مختلفی چون حرارت اعمال شده طی فرایندهای حرارتی و حرارت های پایین طی انجماد و نگهداری حساس می باشند چون ممکن است باعث واسرشت شدن بیشتر پروتئین شده و از این رو پایداری را تحت تأثیر قرار دهد. مطالعات نشان می دهد که کانژوگه شدن موجب افزایش پایداری حرارتی پروتئین ها می شود. دمای واسرشت شدن بالاتر، گویای افزایش پایداری حرارتی پروتئین ها یا پایداری ساختار سوم در حالت گلیکوزیله شده در مقایسه با شاهد می باشد، با اتصال کووالانسی پلی ساکارید هیدروفیل و باردار به پروتئین، اتصالات هیدروژنی و الکتروستاتیک در ساختار سوم و چهارم پروتئین بیشتر شده و ساختار سوم پایدارتر می شود و در نتیجه دمای واسرشت شدن افزایش می یابد و در نتیجه پروتئین ها مقابل حرارت های اعمال شده پایدارتر می گردند (Liu et al, 2012, Xu et al, 2010). همچنین مطابق شکل ۴ حلالیت پروتئین ها نیز با کانژوگه شدن بهبود یافت، بعلاوه خصوصیات امولسیفایری پروتئین ها نیز با اصلاح از طریق واکنش مایلارد بهبود می یابد (جدول ۱). می توان گفت وجود تفاوت در پایداری در طول زمان نگهداری نمونه های نوشیدنی تولیدی به خاطر واسرشت شدن بیشتر پروتئین ها در نمونه شاهد و نیز حلالیت بالاتر پروتئین ها در نمونه کانژوگه می باشد، بنابراین تحت تأثیر عواملی از جمله افزایش دمای واسرشت شدن و حلالیت بالاتر و خصوصیات امولسیفایری بهتر پروتئین ها در نمونه کانژوگه، نوشیدنی حاصل دارای پایداری بهتری می باشد (Millqvist-Fureby, 2001, Kato, 2002).

نتایج مشابهی توسط Liu و همکاران (۲۰۱۲)، با کانژوگه کردن پروتئین های بادام زمینی و دکستران و Kiosseoglou و Diftis (2003)، با کانژوگه کردن پروتئین های سویا و کربوکسی متیل سلولز گزارش شد. بالاتر بودن خصوصیات امولسیفایری گلیکوکانژوگه ها می تواند به دلیل تأثیر همزمان خصوصیات خوب امولسیفایری پروتئین و پایدارکنندگی پلی ساکارید در یک ملکول باشد که از جدا شدن چربی جلوگیری کرده و در نتیجه فعالیت امولسیفایری بهبود می یابد (Chiu et al, 2009, Diftis and Kiosseoglou, 2003). پروتئین ها در لایه بین سطحی آب و روغن جذب شده تا یک لایه پیوسته ویسکوالاستیک را تشکیل دهد، در حالی که پلی ساکاریدها پایداری کلئید را بواسطه خصوصیات قوام دهنده گی و ژله کنندگی در فاز آبی، افزایش می دهند، بنابراین کانژوگه های پروتئین-پلی ساکارید خصوصیات خوب امولسیفایری را از خود نشان می دهد (Kato, 2002).

## بررسی پایداری نوشیدنی سویا

پایداری در طول نگهداری از خصوصیات مهم نوشیدنی های صنعتی به منظور استفاده مصرف کنندگان می باشد. فاکتورهای زیادی نظیر سازش پذیری با سایر اجزای غذایی، میزان و نوع ترکیبات بکار رفته، وجود پایدارکننده ها و غیره در پایداری محصول نهایی تأثیرگذار می باشد. مطابق نتایج شکل ۵ اختلاف معناداری بین پایداری نوشیدنی های تهیه شده بر پایه پروتئین های کانژوگه در مقایسه با نمونه های شاهد در هر دو دمای نگهداری وجود دارد. درصد بالایی از اجزای سازنده بخش خشک (ماده خشک) نوشیدنی سویای تولیدی را پروتئین ها تشکیل داده (۴۰ تا ۴۵٪)



شکل ۵- درصد پایداری نوشیدنی سویا در زمانهای مختلف گرمخانه گذاری (نمودارها نمایانگر میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای سه تکرار می باشد). con1: نمونه گرمخانه گذاری شده به مدت ۱ روز، con2: نمونه گرمخانه گذاری شده به مدت ۲ روز، con3: نمونه گرمخانه گذاری شده به مدت ۳ روز، con4: نمونه گرمخانه گذاری شده به مدت ۴ روز، con6: نمونه گرمخانه گذاری شده به مدت ۶ روز، con8: نمونه گرمخانه گذاری شده به مدت ۸ روز، control: نمونه نوشیدنی پروتئین های سویای شاهد. نمونه های نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد (نمودار بالا). نمونه های گرمخانه گذاری شده در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد (نمودار پایین).

## نتیجه گیری

نیز با کانژوگ شدن بهبود یافت. در نمونه پودر نوشیدنی سویا تهیه شده بر پایه پروتئین های کانژوگ شده در مقایسه با پودر نوشیدنی سویای تهیه شده بر پایه پروتئین های طبیعی میزان پخش پذیری در آب بیشتر شد. واکنش طبیعی مایلارد روشی مناسب جهت بهبود پایداری و خصوصیات عملکردی پروتئین های سویا به منظور کاربردهای صنعتی می باشد.

در این تحقیق پروتئین های سویا و دکستران از طریق واکنش طبیعی مایلارد کانژوگ شدند. الکتروفورز SDS-PAGE، اندازه گیری میزان قهوه ای شدن و اندازه گیری میزان جذب در ناحیه UV نشان داد که بیشترین کانژوگ شدن در نمونه ۸ روز گرمخانه گذاری شده در دمای ۶۰ درجه و pH معادل ۸/۵ رخ داده است. نتایج DSC افزایش قابل توجه دمای دناتوراسیون را با کانژوگ شدن نشان داد و حلالیت

- Aminlari, M., Ramezani, R., and Jadidi, F., 2005. Effect of Maillard-based conjugation with dextran on the functional properties of lysozyme and casein. *J Sci Food Agric*. 85: 2617–2624.
- Ajandouz, E., Desseaux, V., Tazi, S. and Puigserver, A., 2008, Effects of temperature and pH on the kinetics of caramelisation, protein cross-linking and Maillard reactions in aqueous model systems, *Food Chemistry*, 107: 1244–1252
- Alahdad, z., Ramezani, R., Aminlari, M., and Majzoobi. M., 2009. Preparation and Properties of Dextran Sulfate-Lysozyme Conjugate. *J.Agric.Food Chem*. 57: 6449–6454.
- Babiker, E., Hiroyuki, A., Matsudomi, N., Iwata, H., Ogawa, T., Bando, N., and Kato, A. 1998. Effect of Polysaccharide Conjugation or Transglutaminase Treatment on the allergenicity and functional properties of soy protein. *J.Agric. Food Chem*, 46: 866-871.
- Boostani, S., Aminlari, M., Moosavi-nasab, M., Niakosari, M., Mesbahi, GH. 2016. Optimizing the glycation extent of SPI-dextran conjugates produced by different Maillard reaction conditions. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 12: 526-532.
- Boostani, S., Aminlari, M., Moosavi-nasab, M., Niakosari, M., Mesbahi, GH. 2016. Physicochemical and functional properties of acid precipitated soy proteinsmaltodextrin conjugates. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 12: 453-462.
- Chiu, T., Chen,M., and Chang, H, 2009. Comparisons of emulsifying properties of maillard reaction products conjugated by green, red seaweeds and various commercial proteins. *Food Hydrocolloids*, 23: 2270–2277.
- Diftis, N. and Kiosseoglou, V. 2006. Stability against heat-induced aggregation of emulsions prepared with a dry-heated soy protein isolate–dextran mixture. *Food Hydrocolloids*. 20: 787–792.
- Damodaran, S. (1996). Amino Acids, Peptides and Proteins. In: *Food Chemistry*, 3rd ed.; Fennema, O. R., Ed.; Dekker: New York, 321-330.
- Dickinson, E., 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17: 25–39.
- Endres, J. G., 2001. Soy Protein Products Characteristics, Nutritional Aspects, and Utilization. AOAC Press, *Champaign IL*. 16-30.
- Jinapong, N., Suphantharika, M., Jamnong, P., 2008. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration, *Journal of Food Engineering* 84: 194–205.
- Kato, A., Shimokawa, K., and Kobayashi, K, 1991. Improvement of the Functional Properties of Insoluble Gluten by Pronase Digestion Followed by Dextran Conjugation. *J. Agric. Food Chem.*, 39: 1053-1058.
- Kato, A., 2002. Industrial applications of Maillard-type protein- polysaccharide conjugates. *Food Sci Tech Res.*, 8: 193-199.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- Li, Y., Lu, F, Luo, C, Chen, Z, Mao, J, Shoemaker, C, Zhong, F, 2009, Functional properties of the Maillard reaction products of rice protein with sugar, *Food Chemistry*, 117, 69–74
- Lertittikul, W, Benjakul, S. and Tanaka, M, 2007, Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein–glucose model system as influenced by Ph, *Food Chemistry*, 100: 669–677
- Li, Y, Zhong, F, Ji, W, Yokoyama, W, Shoemaker, C. F, Zhu, S, Xia, W, 2013, Functional properties of Maillard reaction products of rice protein hydrolysates with mono, oligo and polysaccharides, *Food Hydrocolloids*, 30: 53-60.
- Liu, Y., Zhao, G., Zhao, M., Ren, J. and Yang, B., 2012. Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through Maillard reaction. *Food Chem.*, 131: 901-906.
- Mu, L., Zhao, M., Yang B., Zhao, H., Cui, C., Zhao, Q., 2010. Effect of ultrasonic treatment on the graft reaction between soy protein isolate and gum acacia and on the physicochemical properties of conjugates. *J. Agric. Food Chem*, 58: 4494–4499.
- Millqvist-Fureby, A., Elofsson, U., and Bergenstahl, B., 2001. Surface composition of spray-dried milk protein-stabilised emulsions in relation to pre-heat treatment of proteins. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 21: 47–58.
- Pearce, K. M. and Kinsella, J. E. 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26: 716-723.
- Qi, J., Yang, X. and Liao, J. 2009. Improvement of functional properties of acid-precipitated soy protein by the attachment of dextran through Maillard reaction, *INT J Food Sci Technol.*, 44: 2296–2302.
- Touré1, A., Zhang, X., Tolno, M., Xia, L., Xueming, X. 2009. Preparation of soybean protein isolate (SPI) drinks using ginger essential oil and oleoresin as flavouring agents. *As. J. Food Ag-Ind*, 2: 72-79
- Usui, M., Tamura, H., Nakamura, K., Ogawa, T., Muroshita, M., Azakami, H., Kanuma, S., and Kato, A, 2004. Enhanced bactericidal action and masking of allergen structure of soy protein by attachment of chitosan through Maillard-type protein-polysaccharide conjugation. *Nahrung/Food*, 48: 69 – 72.
- Xu , C.H., Yang, X.Q., Yu , S.J., Qi, J.R., Guo, R., Sun, W.W., Yao, Y.J., and Zhao, M.M., 2010, The effect of

- glycosylation with dextran chains of differing lengths on the thermal aggregation of  $\beta$ -conglycinin and glycinin, *Food Res Int*, 43: 2270–2276.
- Yadav, M.P., Strahan, G.D., Mukhopadhyay, S., Hotchkiss, A.T., Hicks, K.B., (2012) Formation of corn fiber gumemilk protein conjugates and their molecular characterization, *Food Hydrocolloids*, 26, 326-333

## Functional and stability profile changes of soy proteins cross linked with dextran through natural Maillard reaction

S. Boostani<sup>1</sup>, M. Moosavi-nasab<sup>2</sup>, M. Aminlari<sup>3\*</sup>, M. Niakosari<sup>4</sup>, Gh. R. Mesbahi<sup>5</sup>

Received: 2014.06.15

Accepted: 2015.05.11

**Introduction:** Proteins play a fundamental role in biological systems and are often sensitive against organic solvents, heat and other damaging factors. Proteins are the basic component of food formulations and enhancement the functional characteristics and stability of the proteins has always been the main goal of food industry engineers. One of the natural ways used for protein modifications is Maillard reaction. Maillard reaction as a result of covalent binding between the available amino groups of the proteins and carbonyl containing moiety of the polysaccharides, causes a loss in free amino group content of the mixture. Protein- polysaccharide hybrids, as a result of dry heating of two biopolymers mixture under controlled reaction conditions, cause the emergence of conjugates with novel functionalities. Much research has shown that conjugation can increase thermal stability and functional characteristics of food proteins and also reduce the allergenicity of suspected proteins. Although many studies have been conducted on the effects of conjugation on functional properties of proteins, the impacts of conjugation on proteins behavior after food processing have been less investigated. So, in this paper the influences of Maillard reaction on functional properties of soy proteins have been investigated. In addition, characteristics of conjugated proteins after pasteurization treatment was also studied.

**Materials and methods:** Construction of protein- polysaccharide conjugates was done in several steps. First, soy proteins and dextran were mixed with phosphate buffer (0.1 M, pH: 8.5) and 1 to 4 ratio of protein to polysaccharide. After mixing and incubating at ambient temperature for some hours, solutions were frozen at - 80 °C and freeze dried. Then the lyophilized powder was incubated at different times, at 60°C, under the 79 percent relative humidity in presence of saturated KBr. For each treatment a non conjugated sample was prepared in the exact same condition. Conjugation of proteins to polysaccharides was monitored by SDS-PAGE electrophoresis, browning intensity measurement and UV absorbance analysis. SDS-PAGE was conducted according to Laemmli procedure using a discontinuous buffer system. A vertical gel electrophoresis unit was used with 3% acrylamide stacking gel and 10% acrylamide running gel. Evaluation of the color changes as an indicator of grafting intensity was investigated by monitoring absorption at a wavelength of 420 nm. To investigate the UV absorption of conjugated proteins, the samples were diluted with SDS (Sodium dodecyl sulfate) solution and the absorption was read by a UV-visible spectrophotometer at 294 nm. The impact of modification on characteristics of soy proteins was monitored by examining the functional properties changes of protein samples. In the last stage soy drinks were prepared from conjugated and non conjugated proteins then the prepared beverages were subjected to thermal processing conditions and the influences of Maillard conjugation on the stability of soy drinks was monitored over time.

**Results and Discussion:** SDS-PAGE electrophoresis profile showed that proteins-polysaccharide conjugates were formed. As a result of conjugation, the protein-dextran covalent binding occurs, leads to the formation of higher molecular weight components, resulting in its accumulation on the top of the separating gel. When *heating* time increased a wider and higher molecular weight bands appeared near the top of the running gel however they were not observed in the native soy pattern. Covalent linkage between amino group of proteins and carbonyl group of polysaccharides causes a color changes from light yellow to brown, browning intensity results showed that the even during early incubation time, a significant absorption was observed at 420 nm compared to the control samples. UV absorption results showed similar trend of changes in browning intensity measurement.

1, 4 and 5. Ph.D candidate, Professor and Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

2. Professor, Department of Food Science and Technology and Sea Food Processing Research Group, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

3. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Department of Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

(\*Corresponding author: aminlari@shirazu.ac.ir)

Increasing UV absorption is due to the intermediate Maillard reaction products (MRP). Increasing UV absorption with increasing heating time indicates the fact that Maillard reaction products (MRP) formation are more favorable in the long incubation time. Data of UV absorption are a good evidence for SDS-PAGE and browning intensity results. Functional properties results indicated that grafted proteins had better functional properties. The storage stability of soy drinks prepared from conjugated proteins was significantly higher than the samples prepared from non conjugated proteins. Stability of beverages after thermal processing and during storage is one of the most important features of protein drinks and many efforts have been made to develop mentioned characteristics. Stability of soy drinks produced from the conjugated proteins was significantly higher than those prepared from non conjugated soy proteins. Functional characterization of proteins is dependent on several factors, the majority of soy drink composed of proteins that could be denaturated by heating applied during thermal processing, as the results showed conjugation with dextran caused an increase in denaturation temperature of soy proteins which enhance the resistance of proteins during thermal processing treatment. In addition, the solubility and emulsifying properties of soy proteins increased with conjugation which can be a good reason for improvement the relation between protein and surrounding water molecules and therefore increases the protein storage stability. It can be concluded that Maillard reaction could be applied as a means to prepare soy proteins-dextran conjugates with better functional properties and more stable during processing and storage.

**Keyword.** Stability, Heat processing, Maillard reaction, Soy proteins

## مقایسه اثر دو مدل تیغه لبه صاف و دندانه‌ای (اره‌ای)، بر فرآیند استخراج قند از چغندر قند و کیفیت شربت خام

مریم نقی پورزاده ماهانی<sup>۱</sup>، محمدحسین آق‌خانی<sup>۲\*</sup>، خلیل بهزاد<sup>۳</sup>، عباس روحانی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۷

### چکیده

کیفیت خلال روی عمل اسمز در فرآیند استخراج قند از چغندر قند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به تاثیر لبه تیغه بر پارگی سلول‌های سطح برش، در این مطالعه اثر دو مدل تیغه لبه صاف و لبه اره‌ای با انجام آزمایشات در سه تکرار بر فرایند استخراج مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد نوع تیغه بر درجه خلوص و ماده غیرقندی، جرم ساکاروز در شربت دیفوزیون، درصد قند خارج شده ناشی از برش خلال، قند استخراج شده در دیفوزیون، درجه استخراج قند، بازده تفاله، زمان و انرژی مصرفی در سطح ۵٪ معنی‌دار است. بیشترین درجه خلوص از شربت حاصل از خلال‌های تهیه شده با تیغه صاف ۷۸/۳۳، ۸۴/۸۶ و ۸۵/۵۲ درصد و کمترین مقادیر ماده غیر قندی برای همین تیمار ۰/۱، ۰/۵۵ و ۰/۵۱ درصد به ترتیب برای مراحل شستشوی خلال‌ها، پیش گرم‌کن و دیفوزیون بدست آمد. با استفاده از تیغه لبه اره‌ای قند استخراج شده در اثر برش چغندر ۱۴/۵ درصد، قند استخراج شده در دیفوزیون ۹۴/۴ درصد، جرم ساکاروز شربت ۷/۲۲ گرم و درجه استخراج ۰/۱۹ بدست آمد که این مقادیر نسبت به حالتی که از تیغه لبه صاف برای تهیه خلال استفاده می‌شود؛ بیشتر بدست آمد. همچنین با استفاده از تیغه اره‌ای بازده تفاله پرس شده ۲۸/۹۷ درصد، زمان استخراج به مدت ۴۰ دقیقه و انرژی مصرفی ۱/۷ کیلووات بر ساعت بدست آمد که در مقایسه با استفاده از تیغه لبه صاف به‌طور معنی‌داری کمتر بود.

واژه‌های کلیدی: استخراج قند، تیغه، چغندر قند، خلال

### مقدمه

محققین را از مرحله کاشت چغندر قند تا روش‌های تولید قند و شکر به خود اختصاص داده است. یکی از مراحل اصلی در تولید قند و شکر استخراج ساکاروز از بافت چغندر قند می‌باشد که طبق روش معمول، چغندر به شکل خلال‌هایی تهیه شده و با استفاده از دستگاه دیفوزیون شربت‌گیری انجام می‌شود. اساس استخراج قند از چغندر برپایه انتقال جرم از داخل جسم جامد به مایع است که این پدیده در اثر اختلاف غلظت محلول درون سلول با خلال اتفاق می‌افتد (Asadi, 2007). مواد محلول درون سلولی خلال به تدریج در دمای ۷۰ تا ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در مدت زمان ۷۰ تا ۸۰ دقیقه وارد آب موجود در دستگاه دیفوزیون می‌شوند. عوامل متعددی بر فرایند اسمز اثرگذار می‌باشند که می‌توان به کیفیت خلال، دما، زمان استخراج، مقدار و کیفیت آب مصرفی اشاره کرد (شیخ‌السلامی، ۱۳۸۲). با توجه به اهمیت مرحله استخراج و اثر مستقیم این مرحله بر بازده تولید، مطالعات متعددی برای رسیدن به حدکثر راندمان و حصول کیفیت بالاتر شربت خام انجام شده است. در مطالعاتی کیفیت شربت با اعمال پیش تیمار میدان قوی الکتریکی بر سه نوع خلال چغندر قند (۷ شکل)، استوانه‌ای با قطر یک میلی‌متر و رنده شده با طول ۱ یک میلی‌متر) مورد بررسی

با توجه به نیاز روز افزون جوامع بشری به مواد غذایی، تولیدکنندگان در بخش‌های مختلف کشاورزی و صنعتی همواره در تلاشند تا با روش‌های مختلف مانند استفاده از روش‌های نوین، تجهیزات پیشرفته، بهینه‌سازی فرایند تولید علاوه بر کاهش هزینه‌ها، سطح کیفی و کمی تولیدات خود را ارتقا دهند. همچنین توجه ویژه به مراحل مختلف تولید یک محصول و بهینه‌سازی آن، از روش‌های دستیابی به اهداف فوق می‌باشد. صنعت قند و شکر از صنایع قدیمی با سابقه بیش از صد سال در ایران می‌باشد. با توجه به اهمیت این محصول، از دیرباز تلاش‌های بسیاری برای بهره‌وری و تولید بهتر این محصول انجام شده است بطوریکه طیف وسیعی از مطالعات

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و استادیار، گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

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

## مواد و روش‌ها

### تهیه خلال

به منظور انجام آزمایشات، چغندر قند مورد نیاز از مزرعه دانشگاه فردوسی تهیه و در سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تهیه خلال‌هایی با ضخامت و شکل یکسان دستگاه برشی با قابلیت تغییر تیغه ساخته شد. از دو نوع تیغه با لبه صاف و اره‌ای از جنس استیل، برای تهیه خلال استفاده شد (شکل ۱).

الف

ب



شکل ۱- تیغه‌ای مورد استفاده الف- لبه صاف ب- لبه اره‌ای

برای تهیه خلال از یک سوم میانی چغندر که حاوی بیشترین میزان قند است؛ استفاده شد. پس از پوست‌گیری چغندرها، خلال‌هایی با ضخامت ۴ میلی‌متر و طول یکسان تهیه شد.

### تعیین درصد قند خلال به روش پلاریزاسیون

برای تعیین درصد قند خلال، خلال‌های تهیه شده با هر یک از تیغه‌ها، بطور جداگانه کاملاً مخلوط و هم‌وزن شد و سپس ۲۶ گرم از آن با ترازوی دیجیتالی مدل SARTORIUS GE1302 با دقت ۰/۰۱ توزین و جدا شد. تعیین درصد قند خلال طبق روش استاندارد با استفاده از پلاریومتر مدل آتاگو ساخت ژاپن، انجام شد (Werner, 1966; Icumsa, 1994).

### شستشوی خلال

هنگام تهیه خلال، بخشی از قند چغندر در اثر پارگی سلول‌ها بطور مستقیم خارج می‌شود. به منظور بررسی اثر لبه تیغه بر استخراج مستقیم قند از چغندر، لازم بود تا شربتی که در اثر برش خارج شده و روی سطح خلال‌ها قرار گرفته است، جدا شده و مجدداً درصد قند خلال تعیین شود. همچنین برای بررسی بهتر اثر لبه تیغه، تعیین درجه خلوص شربت حاصل از شستشوی خلال، الزامی بود. این شربت از مخلوط آب مقطر با شربت روی سطح خلال که در اثر برش و به‌طور مستقیم خارج شده است؛ حاصل می‌شود. برای اعمال شرایط یکسان در تمام تیمارها، عمل شستشوی ۱۶۰ گرم خلال با ۳۲۰ گرم آب مقطر به روش غرقابی طی چند ثانیه آبشویی شد. سپس با یک سبد، خلال و شربت جدا شد. پس از جداسازی کامل شربت از خلال‌ها، ۲۶ گرم از خلال‌های شسته شده و ۲۶ گرم از شربت حاصله، برای تعیین درصد قند، توزین و جدا شد. درصد قند خلال و

قرار گرفت (Eshtiaghi *et al.*, 2002). همچنین اثر پارامتر فیزیکی اندازه‌ی خلال با ضخامت ۱، ۱/۵ و ۳ میلی‌متر بر بازده شربت مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج نشان داد؛ بیشترین سطح بازده شربت از خلال‌هایی با ضخامت ۱ میلی‌متر حاصل می‌شود (Praporscic *et al.*, 2005). همچنین روش استخراج نیز مورد مطالعه قرار گرفته است که نتایج نشان داده است امکان استخراج قند به روش سرد و با آب معتدل وجود دارد (Jemai and Vorobiev, 2003)، مطالعات مشابهی در این زمینه انجام شده است که در آن بررسی پارامترهای مختلفی از جمله اثر دمای استخراج و پیش تیمار میدان الکتریکی بر انرژی، زمان استخراج و بازده استخراج قند (Lopez *et al.*, 2009)، اثر پالس‌های الکتریکی مختلف بر سینتیک استخراج قند (El-Belghiti *et al.*, 2005) و اثر دمای استخراج ۳۰ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد به عنوان استخراج سرد و گرم بر فرایند استخراج (Loginova *et al.*, 2011) انجام شده است. همچنین در مطالعه‌ای دیگر سینتیک استخراج در دیفوزیون سرد و گرم نیز با هم مقایسه شد و ضرایب انتشار از بافت چغندر قند در حالت بدون پیش تیمار و با پیش تیمار پالس میدان الکتریکی بررسی شد (Lebovka *et al.*, 2007). در فرایند تولید قند، مرحله استخراج قند در دیفوزیون اهمیت ویژه‌ای دارد. مطالعات متعددی داشته و کیفیت خلال اثر مستقیم بر فرایند اسمز و کیفیت شربت خام دارد. هر چه سطح نسبی خلال بیشتر و سطح تماس خلال با محلول اطراف آن بیشتر باشد؛ اسمز بهتر انجام می‌شود (Schneider, 1968). در حال حاضر در صنعت قند از آسیاب خلال برای تهیه خلال استفاده می‌شود. این آسیاب‌ها مجهز به نوعی تیغه شیاردار است که خلال‌هایی با سطح مقطع V شکل ایجاد می‌کند تا خلال بیشترین سطح تماس را با محلول داشته باشد. بخشی از قند چغندر هنگام تهیه خلال در اثر پارگی سلول‌های سطحی به‌طور مستقیم خارج می‌شود. از آن جا که لبه تیغه اثر مستقیم بر میزان پارگی سلول‌های سطحی دارد، می‌توان گفت پارگی سلول‌های سطحی متأثر از نوع لبه تیغه می‌تواند بر میزان خروج مواد درون سلول‌های سطحی موثر باشد که در نهایت بر راندمان استخراج اثرگذار خواهد بود. همچنین انواع تیغه با لبه‌های مختلف باعث ایجاد سطح نسبی متفاوتی در مسیر برش می‌شود. با توجه به اهمیت سطح نسبی خلال در فرایند اسمز، بررسی این عامل بر فرایند اسمز پیشنهاد شد. از آنجا که سال‌هاست از تیغه‌های شیاردار در آسیاب خلال استفاده می‌شود می‌توان با نگاه ویژه به این مرحله از تولید و بهبود تجهیزات، راندمان تولید را افزایش داد. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر دو نوع تیغه لبه صاف و اره‌ای، بر فرایند استخراج و کیفیت شربت خام می‌باشد.

پس از اندازه‌گیری بریکس شربت در زمان‌های مختلف و تعیین بریکس نهایی شربت، بازده استخراج از نسبت بریکس در هر زما ( $C_t$ ) بر بریکس تعادل ( $C_\infty$ ) طبق رابطه ۱ بدست آمد (Lopez *et al.*, 2009).

$$Y_t = (C_t / C_\infty) \times 100 \quad (1)$$

#### درجه خلوص شربت

در پایان هر یک از مراحل شستشوی خلل، پیش گرم‌کن و دیفوزیون، بریکس و درصد قند شربت حاصل در هر مرحله اندازه‌گیری شد. سپس درجه خلوص شربت که از نسبت درصد قند شربت ( $S_{jris}$ ) به بریکس ( $C$ ) بدست می‌آید؛ از رابطه ۲ محاسبه شد (Asadi, 2007).

$$\text{Purity}(\%) = (S_{jris} / C) \times 100 \quad (2)$$

#### ماده غیرقندی شربت

در ادامه محاسبات، ماده غیرقندی<sup>۲</sup> شربت از تفاضل بریکس ( $C$ ) از درصد قند شربت بر حسب درصد از رابطه ۳ محاسبه شد (Asadi, 2007).

$$NS = C - S_{jris} \quad (3)$$

#### درصد قند خارج شده در مرحله تهیه خلل

پس از تهیه خلل‌های هر تیمار، درصد قند آن‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس خلل‌های هر تیمار شسته شده و مجدداً درصد قند آن‌ها اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج بدست آمده، درصد قند خارج شده در اثر برش از رابطه ۴ محاسبه شد.

$$H = ((S_c - S_w) / S_c) \times 100 \quad (4)$$

که در این رابطه  $S_c$  درصد قند خلل،  $S_w$  درصد قند خلل بعد از شستشوی خلل‌ها می‌باشد.

#### جرم ساکاروز استخراج شده در دیفوزیون

پس از پایان مرحله استخراج جرم ساکاروز استخراج شده در مرحله استخراج در دیفوزیون از رابطه ۵ محاسبه شد (Eshtiaghi *et al.*, 2002).

$$\text{extracted sucrose (g)} = (S_w \times W_j) \times 100 \quad (5)$$

در این رابطه،  $W_j$  وزن شربت ( $g$ ) و  $S_w$  درصد قند خلل بعد از شستشو می‌باشد.

درصد قند شربت، طبق روش استاندارد ICUMSA با استفاده از پلاریمتر تعیین شد (Werner, 1966).

#### پیش گرم‌کن

پس از مرحله شستشو، به منظور آماده‌سازی خلل‌ها برای استخراج در دیفوزیون، پیش گرم‌کردن آن‌ها طبق روش رایج در صنعت و استاندارد موجود، در دمای ۷۰ درجه و زمان ۷ دقیقه انجام شد (Asadi, 2007:180). در این مرحله ۱۳۰ گرم خلل در ظرفی محتوی ۲۶۰ گرم آب مقطر با دمای ۹۰ درجه ریخته شد تا دمای تعادل مخلوط خلل و شربت به ۷۰ درجه برسد. سپس مخلوط در بن ماری با دمای ۷۰ درجه به مدت ۷ دقیقه قرار گرفت. در پایان، شربت حاصل در این مرحله با سبب از خلل‌ها جدا شد و پس از اینکه دمای شربت با محیط هم دما شد درصد قند آن طبق روش استاندارد تعیین شد (Werner, 1966).

#### استخراج در دیفوزیون

بهترین دما برای استخراج قند در دیفوزیون، دمای ۷۰ تا ۷۳ درجه سانتی‌گراد تعیین شده است (بهزاد و شهیدی نوقابی، ۱۳۹۵). در این مرحله، خلل‌ها در ظرفی حاوی ۲۶۰ گرم آب مقطر با دمای ۷۰ درجه در بن ماری با توان ۱/۶ kw مدل (Heraeus) و دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. از آنجا که در این پژوهش زمان استخراج یکی از متغیرهای مورد مطالعه بود استخراج تا زمانی که بریکس شربت ثابت شود ادامه داشت و پس از ثبات بریکس که نشان از توقف عمل اسمز (پایان استخراج) دارد؛ زمان ثبت شد. همچنین بریکس شربت در فواصل زمانی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه تا ثابت شدن بریکس با رفرکتومتر دیجیتال مدل (atago pal-3) اندازه‌گیری شد. پس از آنکه بریکس شربت ثابت و شربت به حالت تعادل رسید و عمل اسمز و استخراج پایان یافت؛ شربت و خلل با استفاده از یک سبب جدا شد. سپس درصد قند شربت حاصل در مراحل مختلف طبق روش استاندارد تعیین شد (Werner, 1966; Icumsa, 1994). پس از فرایند استخراج، خلل‌ها با استفاده از یک پرس آزمایشگاهی تحت فشار ۲ بار به مدت ۱۵ دقیقه پرس شدند. پس از توزین تفاله‌های پرس شده، درصد قند تفاله تعیین شد (Werner, 1966).

#### محاسبات

##### بازده استخراج<sup>۱</sup>

بازده استخراج معیاری است که برای بررسی روند استخراج استفاده می‌شود. این پارامتر زمانی که عیار چغندرهای مورد استفاده متفاوت است؛ بکار می‌رود (Lopez *et al.*, 2009). در این مطالعه

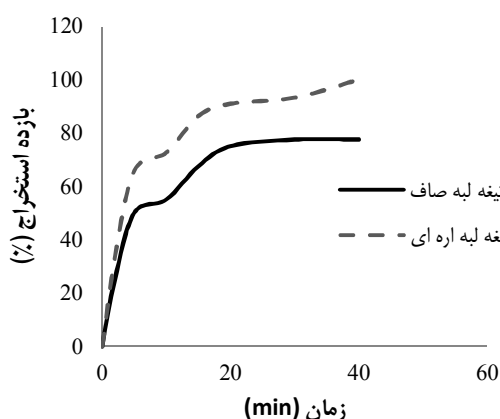
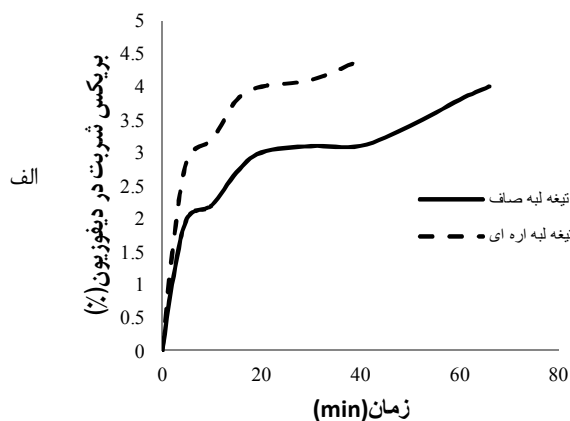
<sup>۲</sup> Non sucrose material

<sup>۱</sup> Extraction Efficiency

## نتایج و بحث

### سینتیک استخراج

با تعیین بریکس در زمان‌های متوالی در مرحله استخراج، روند تغییرات بریکس محلول و بازده بررسی شد (شکل ۲).



شکل ۲- نمودار تغییرات بازده و بریکس شربت نسبت به زمان استخراج در دیفوزیون الف) تغییرات بریکس نسبت به زمان استخراج ب) تغییرات بازده استخراج نسبت به زمان

نتایج نشان داد در شروع عمل اسمز استخراج سریعتر انجام می‌شود و به تدریج با کاهش اختلاف غلظت محلول و مواد درون سلولی از سرعت آن کاسته می‌شود. در شروع عمل اسمز به دلیل اختلاف غلظت بیشتر بین محلول و مواد درون سلولی سرعت انتقال جرم سریعتر انجام می‌شود. با گذشت زمان و کاهش اختلاف غلظت سرعت استخراج کم شده و زمانی که محلول به تعادل رسید انتقال جرم متوقف و استخراج پایان می‌یابد. در مقایسه روند استخراج از خلال‌های تهیه شده با دو نوع تیغه، نتایج نشان داد در خلال‌های تهیه شده با تیغه لیه اره‌ای بریکس شربت در زمان کوتاه‌تر و در مدت

### قند استخراج شده در اثر اسمز

پس از عمل دیفوزیون و جداسازی خلال از شربت، خلال‌ها پرس پس از وزن گیری درصد قند آن‌ها تعیین شد. سپس درصد قند استخراج شده که ارتباط بین قند بدست آمده از تفاله پرس شده و قند موجود در خلال را بیان می‌کند و از رابطه ۶ قابل محاسبه شد (Eshtiaghi *et al.*, 2002).

$$\left( (S_w \times W_c - S_p \times W_p) / S_w \times W_c \right) \times 100 \quad (6)$$

در این رابطه،  $W_c$  وزن خلال مصرفی و  $W_p$  وزن تفاله پرس شده (g) و  $S_p$  در صد قند تفاله پرس شده می‌باشد.

### بازده تفاله پرس شده

پس از پرس تفاله در هر تیمار و توزین آن، بازده جرمی تفاله که مبین انتقال جرم از خلال چغندر قند بوده و از نسبت جرم تفاله پرس شده ( $W_p$ ) به جرم چغندر مصرفی ( $W_c$ ) محاسبه می‌شود طبق رابطه ۷ بدست آمد (بابنیک و همکاران، ۱۳۸۳).

$$Y_p = (W_p / W_c) \times 100 \quad (7)$$

### درجه استخراج<sup>۳</sup>

پس از پایان استخراج و پرس تفاله درصد قند تفاله اندازه‌گیری شد. سپس درجه استخراج که معرف ظرفیت استخراج است و نسبت قند تفاله پرس شده ( $S_p$ ) را به قند موجود در خلال قبل از استخراج ( $S_c$ ) بیان می‌کند با استفاده از رابطه ۸ محاسبه شد (Eshtiaghi *et al.*, 2002).

$$\text{Degree Extraction} = S_p / S_c \quad (8)$$

### انرژی مصرفی

در این پژوهش انرژی مصرفی در استخراج قند، با استفاده از توان مصرفی بن‌ماری و زمان مراحل پیش گرم‌کن و دیفوزیون که در آن استخراج صورت گرفته است؛ طبق رابطه ۹ بدست آمد.

$$E = P \times t \quad (9)$$

در این رابطه،  $P$  توان بن‌ماری (kW) و  $t$  زمان (h) است.

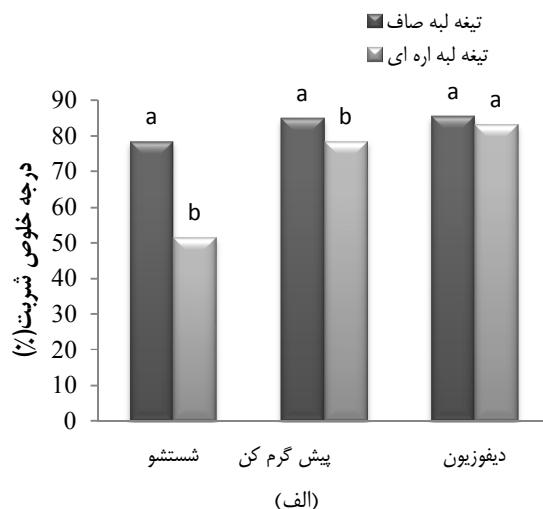
### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

پس از انجام آزمایشات و محاسبات، نتایج با آزمون مقایسه میانگین دو گروه مستقل با نرم‌افزار minitab 17 تجزیه و تحلیل شد و نمودارها در excel رسم شد.

<sup>۳</sup>Degree of extraction

دیفوزیون، نتایج تجزیه و تحلیل شد. یافته‌ها نشان می‌دهد در شرایطی که از تیغه لبه صاف برای تهیه خلال استفاده شود؛ شربت‌دارای درجه خلوص بالاتری است (شکل ۳-ا). در مرحله شستشوی خلال، درجه خلوص شربت حاصل از خلال‌های تهیه شده با تیغه لبه صاف ۷۸/۳۳ درصد و برای خلال‌های تهیه شده با تیغه اره‌ای ۵۱/۵۲ درصد دست آمد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان می‌دهد که در مقادیر بدست آمده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ وجود دارد که این امر، مبین اثر لبه تیغه بر کیفیت شربت حاصل در این مرحله است. شربت از مواد قندی و غیرقندی تشکیل شده است و هر چه درصد مواد غیرقندی کمتر باشد شربت خالص‌تر و کیفیت آن بالاتر است. در صنعت همواره تلاش بر این است که شربت بالاترین درجه خلوص را داشته باشد. پارگی سلول‌ها ناشی از لبه تیغه باعث ورود مستقیم مواد قندی و غیرقندی به شربت می‌شود که افزایش بریکس شربت را به دنبال دارد. در این مرحله شربت به‌طور مستقیم و بدون عمل اسمز، در اثر پارگی سلول‌های سطحی خارج می‌شود. تیغه‌های لبه اره‌ای علاوه بر اینکه سطح برش بیشتری نسبت به تیغه‌های لبه صاف ایجاد می‌کنند؛ به دلیل شکل لبه آن پارگی سلولی بیشتری در سطح برش ایجاد می‌کنند. این امر باعث افزایش ورود مواد درون سلولی و غیرقندی به شربت و کاهش درجه خلوص شربت می‌شود.

در مرحله پیش گرم‌کن پرده نیمه تراوا تخریب شده و عمل استخراج به روش اسمز شروع می‌شود. درجه خلوص شربت در این مرحله برای شربت حاصل از خلال‌های تهیه شده با تیغه لبه صاف و اره‌ای به ترتیب ۸۴/۸۶ و ۷۸/۳۹ درصد بدست آمد.



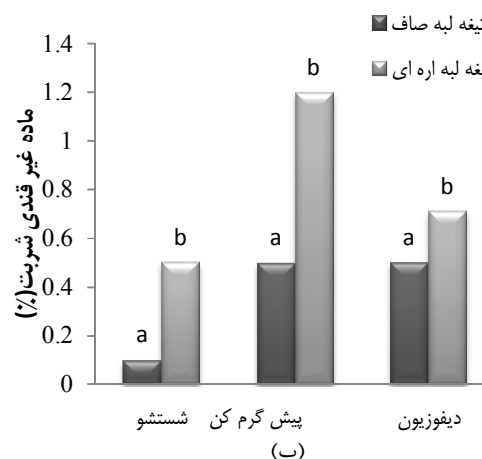
شکل ۳- بررسی اثر لبه تیغه بر متغیرهای مورد مطالعه (الف) درجه خلوص شربت (ب) ماده غیرقندی شربت در مراحل مختلف

زمان ۴۰ دقیقه به تعادل رسیده است و در تیمار دیگر پس از ۶۶ دقیقه استخراج پایان می‌یابد (شکل ۲-ا). پس از پایان استخراج بازده استخراج در زمان‌های مختلف با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد. بررسی تغییرات بازده محلول در مدت ۴۰ دقیقه نشان داد در زمان‌های مختلف بازده محلول حاصل از خلال‌های تهیه شده با تیغه لبه اره‌ای بیشتر از تیمار دیگر می‌باشد به‌طوری‌که بازده در شربت حاصل از خلال‌های تهیه شده با تیغه اره‌ای و صاف به ترتیب ۱۰۰ و ۷۷/۵ درصد بدست آمد (شکل ۲-ب).

اساس تهیه شربت در این مراحل، بر مبنای انتقال جرم از بافت داخلی چغندر قند با پدیده‌ی اسمز می‌باشد. عوامل متعددی بر کیفیت عمل اسمز اثرگذار است که همانطور که اشاره شد یکی از مهمترین آن‌ها سطح تماس جسم جامد با مایع است به‌طوری که هرچه سطح تماس بیشتر باشد عمل اسمز و استخراج بهتر انجام می‌شود (Schneider, 1968; Asadi, 2007). تیغه‌های لبه اره‌ای با ایجاد شیارهایی در سطح برش باعث افزایش نسبت سطح به حجم خلال می‌شوند که در مقایسه با خلال‌های تهیه شده با تیغه لبه صاف سطح تماس بیشتری با محلول دارد که در نتیجه مواد بیشتری وارد محلول می‌شود که افزایش میزان بریکس و در صد قند محلول را به دنبال دارد. در خلال‌های تهیه شده با تیغه اره‌ای عمل اسمز بهتر انجام شده و انتقال جرم سریع‌تر و در زمان کمتری انجام می‌شود که در نهایت باعث افزایش بازده محلول می‌شود.

### درجه خلوص شربت

پس از محاسبه و تعیین درجه خلوص شربت حاصل از شستشوی خلال، شربت حاصل در مرحله پیش گرم‌کن و شربت مرحله



اختلاف معنی‌دار نشان می‌دهد که نوع لبه تیغه بر درجه خلوص در این مرحله اثرگذار است ( $P < 0.05$ ) (شکل ۳-ا). در مرحله پیش گرم کردن استخراج با عمل اسمز شروع می‌شود. در شروع مرحله استخراج ابتدا مواد قندی از سلول خارج شده و پس از آن مواد غیرقندی وارد شربت می‌شود (Autorenkollektiv, 1984). از آنجا که سرعت عمل اسمز در خلال‌های تهیه شده با تیغه اره‌ای به دلیل سطح نسبی بزرگتر، بیشتر است؛ استخراج با شتاب بیشتری انجام می‌شود و در مدت زمان یکسان، این تیمار سریعتر وارد فاز خروج مواد غیر قندی شده و مواد غیر قندی بیشتری وارد شربت می‌شود که نتیجه آن کاهش درجه خلوص شربت است.

پس از اعمال پیش گرم‌کن به منظور ادامه استخراج، خلال‌ها وارد مرحله اصلی دیفوزیون شد. درجه خلوص شربت حاصل از این مرحله‌ها خلال‌های تهیه شده با تیغه لبه صاف و اره‌ای به ترتیب ۸۵/۵۲ و ۸۳/۲ درصد بدست آمد. در این مرحله، استخراج از سلول‌های بافت میانی خلال‌ها انجام می‌شود بنابراین پارگی سلول‌های سطحی، تأثیر معنی‌داری بر درجه خلوص شربت ندارد (شکل ۳-ا).

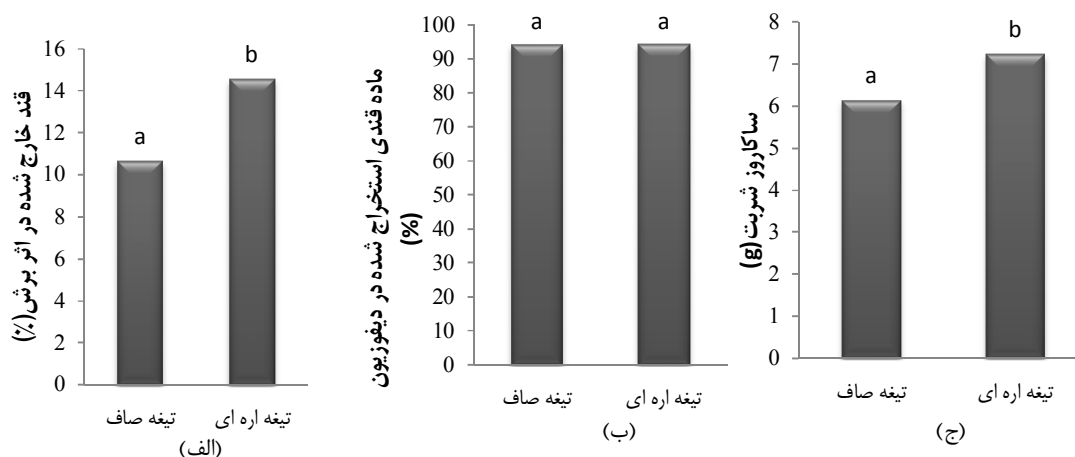
#### مواد غیر قندی شربت

پس از تعیین بریکس و درصد قند شربت در هر مرحله میزان مواد غیر قندی محاسبه و با آزمون مقایسه میانگین آنالیز شد. بررسی نتایج نشان داد مواد غیرقندی شربت حاصل از خلال‌هایی که با تیغه اره‌ای تهیه شده‌اند، به صورت معنی‌داری در سطح ۵٪ بیشتر است (شکل ۳-ب).

ب). کمترین مقادیر مواد غیرقندی برای شربت حاصل از خلال‌های برش خورده با تیغه صاف ۰/۱، ۰/۵۵ و ۰/۵۱ درصد به ترتیب برای مراحل شستشو، پیش گرم‌کن و دیفوزیون بدست آمد. همچنین مواد غیرقندی در شربت حاصل از خلال‌های تهیه شده با تیغه اره‌ای در سطحی بالاتر به میزان ۰/۵، ۱/۲ و ۰/۷۱ درصد به ترتیب برای مراحل شستشو، پیش گرم و دیفوزیون بدست آمد. هر چه میزان مواد غیرقندی شربت کمتر باشد کیفیت و درجه خلوص شربت بالاتر است. در مرحله شستشو، پارگی سلولی بیشتر در استفاده از تیغه اره‌ای باعث افزایش ورود مواد غیرقندی به شربت و کاهش کیفیت و خلوص آن می‌شود. استفاده از این تیغه باعث می‌شود عمل اسمز در مراحل پیش گرم‌کن و دیفوزیون سریع‌تر انجام می‌شود. افزایش سرعت اسمز باعث می‌شود خلال‌ها سریع‌تر وارد فاز خروج مواد غیرقندی به شربت شوند بنابراین در زمان ثابت ورود مواد غیرقندی از خلال‌های تهیه شده با تیغه اره‌ای به شربت بیشتر از تیمار دیگر می‌باشد که در نهایت باعث کاهش درجه خلوص شربت می‌شود.

#### قند استخراج شده در اثر برش

پس از تعیین درصد قند خلال قبل و بعد از شستشو، درصد قند استخراج شده با استفاده از رابطه ۴ محاسبه شد. نتایج نشان داد در مرحله تهیه خلال لبه تیغه بر میزان قند استخراج شده از چغندر قند اثر گذار است و استفاده از تیغه‌های لبه اره‌ای میزان استخراج قند در مرحله برش را بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۴-ا).



شکل ۴- اثرات لبه تیغه بر متغیرهای مورد مطالعه (الف) قند استخراج شده در مرحله برش، (ب) ماده قندی استخراج شده در دیفوزیون (ج) جرم ساکاروز شربت حاصل از دیفوزیون

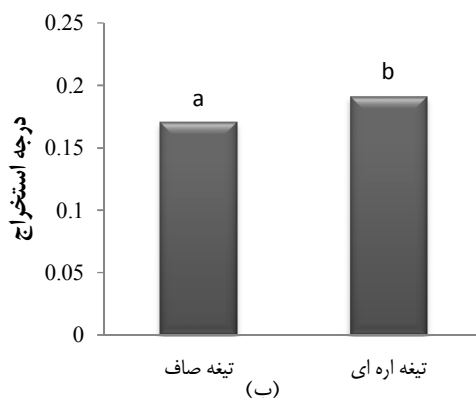
درصد قند خلال خارج می‌شود. همانطور که قبلاً اشاره شد تیغه‌های لبه اره‌ای باعث ایجاد سطح برش بیشتر می‌شود و به دلیل لبه

با استفاده از این نوع تیغه ۱۴/۵ درصد قند چغندر قند در مرحله تهیه خلال استخراج می‌شود و در برش با تیغه لبه صاف ۱۰/۶۲

آماری نمی‌توان از اثر تیغه در سطح تولید چشم‌پوشی کرد. همچنین نتایج مقایسه میانگین‌های ساکاروز موجود در شربت نشان داد میزان ساکاروز شربت حاصل از خلال‌های تهیه شده با تیغه اره‌ای ۷/۲۲ گرم و بطور معنی‌داری بیشتر است (شکل ۴-۵). میزان ساکاروز شربت حاصل از خلال‌های تهیه شده با تیغه صاف ۶/۱۳ گرم بدست آمد. افزایش عمل اسمز به دلیل افزایش سطح خلال‌ها می‌باشد که در اثر لبه تیغه ایجاد شده است. بررسی‌ها نشان داده است سطح تماس جامد با مایع بر عمل اسمز اثر گذار است (Schneider, 1968).

#### بازده تفاله پرس شده و درجه استخراج

پس از پایان استخراج و پرس تفاله و توزین آن‌ها، بازده جرمی تفاله از رابطه ۷ محاسبه شد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بازده جرمی تفاله برای خلال‌هایی که با تیغه لبه اره‌ای و لبه صاف تهیه شدند به ترتیب ۲۸/۹۷ و ۳۲/۹۹ درصد بدست آمد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد لبه تیغه بر بازده تفاله پرس شده اثرگذار است و در حالتی که خلال‌ها با تیغه اره‌ای تهیه شوند بازده تفاله بطور معنی‌داری در سطح ۵٪ کمتر خواهد شد (شکل ۵-۵). همانطور که نتایج پیشین نشان داد عمل اسمز از خلال‌های تهیه شده با تیغه اره‌ای بهتر انجام می‌شود و مواد بیشتری از خلال خارج و وارد محلول می‌شود و با افزایش انتقال جرم از این خلال‌ها جرم نهایی تفاله کمتر خواهد بود.



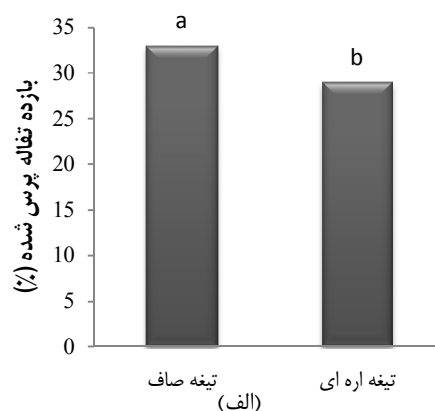
شکل ۵- بررسی اثرات تیغه بر متغیرهای مورد مطالعه الف) بازده تفاله پرس شده، ب) درجه استخراج

صاف ۰/۱۷ بدست آمد که اختلاف معنی‌دار آن‌ها در سطح ۵٪، نشان داد لبه تیغه بر درجه استخراج اثرگذار است و تیغه‌های اره‌ای باعث افزایش ظرفیت و درجه استخراج می‌شود (شکل ۵-۵). در مطالعه‌ای مشابه اثر متغیر فیزیکی سایز خلال و پیش تیمار میدان الکتریکی بر

دندانهای، تخریب و پارگی سلولی بیشتری در سطح برش ایجاد می‌کند که این باعث خروج بیشتر مواد درون سلولی می‌گردد. با توجه به نتیجه بدست آمده، می‌توان گفت با استفاده از این نوع تیغه، بخشی قابل توجه از قند چغندر در مرحله تهیه خلال استخراج می‌شود که این می‌تواند منجر به افزایش بازده تولید شود.

#### قند استخراج شده در دیفوزیون و ساکاروز شربت

پس از پایان استخراج و پرس خلال‌ها و تعیین درصد قند تفاله‌ها، قند استخراج شده با استفاده از رابطه ۶ محاسبه شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد لبه تیغه اثر معنی‌داری در میزان قند استخراج شده در مرحله دیفوزیون ندارد (۴-۵). ماده قندی استخراج شده از خلال‌هایی که با تیغه اره‌ای تهیه شدند ۹۴/۴ درصد و از خلال‌هایی که با تیغه صاف تهیه شدند ۹۴/۳ درصد بدست آمد. در حالتی که خلال‌ها با تیغه اره‌ای تهیه می‌شوند؛ قند بیشتری وارد شربت شده و درصد کمتری از قند در تفاله باقی می‌ماند (Eshtiaghi *et al.*, 2002). می‌توان نتیجه گرفت سطح نسبی بیشتر خلال‌های تولید شده با این نوع تیغه باعث افزایش عمل اسمز و در نتیجه درصد بالاتر قند استخراجی می‌شود. هر چند نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار وجود ندارد اما این اختلاف جزئی در صنعت اهمیت ویژه‌ای دارد زیرا در سطح تولید و با افزایش مقیاس چغندر مصرفی، این اختلافات جزئی اثرات قابل توجهی بر بازده نهایی تولید و سودآوری تولیدکننده خواهد گذاشت؛ بنابراین با توجه به نتایج

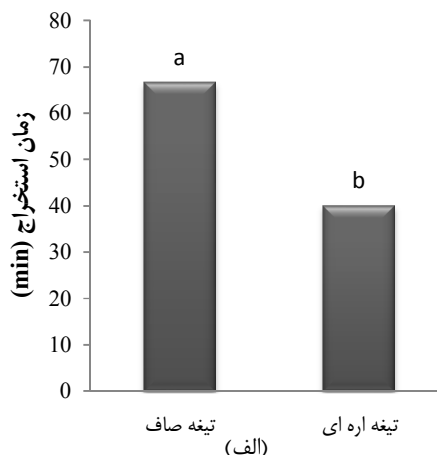
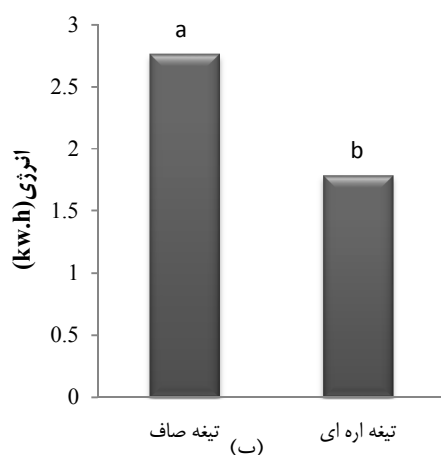


درجه استخراج، شاخصی برای تعیین ظرفیت استخراج است (Eshtiaghi *et al.*, 2002). سطوح بالای درجه استخراج نشان‌دهنده بالا بودن ظرفیت استخراج و شرایط بهتر این فرایند است. پس از انجام محاسبات درجه استخراج برای تیغه اره‌ای ۰/۱۹ و برای تیغه

### زمان و انرژی استخراج

زمان استخراج در فرایند تولید اهمیت بسزایی دارد. هرچه در زمان استخراج کوتاه‌تر باشد انرژی مصرفی کاهش خواهد یافت. بررسی‌ها نشان داد لبه تیغه بر زمان استخراج در سطح ۵ درصد اثر معنی‌دار ایجاد می‌کند (شکل ۶-ا). استخراج از خلال‌هایی که با تیغه اراهی تهیه شدند در مدت ۴۰ دقیقه و از خلال‌هایی که با تیغه صاف تهیه شدند در ۶۶ دقیقه انجام شد. همانطور که پیش از این اشاره شد افزایش سرعت عمل اسمز به دلیل سطح بیشتر خلال‌های تهیه شده با تیغه اراهی، باعث می‌شود محلول سریع‌تر به حالت تعادل رسیده و استخراج پایان یابد.

درجه استخراج بررسی شد. در این مطالعه درجه استخراج در محدوده ۰/۰۲ تا ۰/۵ بدست آمد و نتایج نشان داد اعمال پالس الکتریکی باعث افزایش درجه استخراج می‌شود (Eshtiaghi *et al.*, 2002). می‌توان گفت استفاده از تیغه‌های لبه اراهی ظرفیت استخراج را به صورت معنی‌داری افزایش می‌دهد که این امر باعث کاهش زمان و انرژی مصرفی در فرایند استخراج می‌شود. همانطور که پیش از این بیان شد بهبود عمل اسمز با افزایش سطح نسبی در خلال‌های تهیه شده با تیغه اراهی، باعث می‌شود درصد بالایی از قند خلال وارد شربت شده و قند کمتری در تفاله باقی بماند که افزایش ظرفیت استخراج را به دنبال دارد.



شکل ۶- بررسی اثرات لبه تیغه بر متغیرهای الف) زمان استخراج شربت در دیفوزیون ب) انرژی مصرفی

شده از چغندر در زمان برش، جرم ساکاروز شربت، درجه استخراج، بازده تفاله، زمان استخراج و انرژی مصرفی اثر داشت ( $P < 0.05$ ). بیشترین مقادیر درجه خلوص شربت و ماده غیرقندی از خلال‌های تهیه شده با تیغه لبه صاف بدست آمد. این مقادیر برای سه مرحله شستشو خلال، پیش گرم کن و دیفوزیون به ترتیب ۷۸/۳۳، ۸۴/۸۶ و ۸۵/۵۲ درصد برای درجه خلوص و ۰/۱، ۰/۵۵ و ۰/۵۱ برای ماده غیرقندی بدست آمد. درصد قند استخراج شده در اثر برش چغندر و تهیه خلال با تیغه لبه اراهی به میزان ۱۴/۵ درصد بدست آمد. این مقدار نسبت به زمانی که خلال‌ها با تیغه لبه صاف تهیه شوند با اختلافی معنی‌دار بیشتر است. با استفاده از تیغه لبه اراهی جرم ساکاروز شربت و درجه استخراج بیشتر از زمانی بود که از تیغه لبه صاف استفاده شد که این مقادیر به ترتیب ۷/۲۲ گرم و ۰/۱۹ بدست آمد. استفاده تیغه اراهی برای تهیه خلال باعث کاهش ۴ درصدی بازده تفاله، کاهش ۱۶ دقیقه‌ای زمان دیفوزیون و کاهش انرژی تا

بررسی انرژی مصرفی در دیفوزیون نشان داد؛ لبه تیغه باعث اختلاف معنی‌داری در انرژی مصرفی می‌شود ( $P < 0.05$ ). انرژی مصرفی برای استخراج قند از خلال‌هایی که با تیغه اراهی و صاف تهیه شدند به ترتیب ۱/۷ و ۲/۷۶ کیلووات بر ساعت بدست آمد (شکل ۶-ب). می‌توان نتیجه گرفت استفاده از تیغه اراهی باعث تسریع عمل اسمز و در نهایت کاهش مصرف انرژی در این مرحله دیفوزیون می‌شود.

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد لبه تیغه رفتار متفاوتی در فرایند استخراج ایجاد می‌کند بطوریکه استفاده از تیغه‌ی لبه اراهی باعث افزایش شتاب استخراج و بازده محلول شد. همچنین لبه تیغه اثر معنی‌داری بر درجه خلوص شربت حاصل در مراحل شستشو و پیش گرم کن، بر میزان مواد غیرقندی شربت در تمامی مراحل، قند خارج

۱/۰۶ کیلووات بر ساعت شد. شربت خام در تمام مراحل، در تیغه صاف بیشتر است. از آنجا که در تیغه‌های نوع صاف زمان بیشتری برای استخراج لازم است؛ برای اره‌ای زمان اسمز در مقایسه با تیغه صاف کمتر شده است اما کیفیت کاهش زمان باید از دیفوزیون بزرگتر استفاده شود.

## منابع

- بونیک، زد، کادل، پی، یوربان، دی و برانس، ام، ۱۳۸۳، راهنمای مهندسان صنایع قند. ترجمه حجت الاسلامی، علوم کشاورزی و شرکت فرآورده های غذایی و قند چهارمحال، ۲۷۷.
- بهزاد، خ، شهیدی نوقابی، م، ۱۳۹۵، مبانی قندسازی و شربت گیری از چغندر قند (از مزرعه تا استخراج در کارخانه)، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲۷۳.
- شیخ الاسلامی، ر، ۱۳۸۲، تکنولوژی قند، مولف، تهران، ۱۹۷.
- Asadi, M., 2007. Beet-Sugar Handbook. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ.
- Autorenkollektiv, 1984. Die zuckerherstellung Verlag VEB Leipzig
- El-Belghiti, K., Rabhi, Z., Vorobiev, E., 2005a. Kinetic model of sugar diffusion from sugar beet tissue treated by pulsed electric field. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85, 213–218.
- Eshtiaghi, M.N., Knorr, D., 2002. High electric field pulse pretreatment: potential for sugar beet processing. *Journal of Food Engineering* 52, 265–272.
- ICUMSA (1994). ICUMSA Method Book. Bartens, Berlin.
- Jemai, A. B., Vorobiev, E. 2003. Enhanced Leaching from Sugar Beet Cossettes by Pulsed Electric Field. *Journal of Food Engineering*, 59, 405–412.
- Lebovka, N. I., Shynkaryk, M. V., El-Belghiti, K., Benjelloun, H., Vorobiev, E. 2007. Plasmolysis of Sugarbeet: Pulsed Electric Fields and Thermal Treatment. *Journal of Food Engineering*, 80, 639–644.
- Lo'pez, N., Pue'rtolas, E., Condo' n, S., Raso, J., A'lvarez, A. 2009. Enhancement of the solid-liquid extraction of sucrose from sugar beet (*Beta vulgaris*) by pulsed electric fields. *Food Science and Technology* 42:1674–1680
- Loginova, K.V., Vorobiev, E., Bals, O & Lebovka, N.L., 2011, Pilot study of countercurrent cold and mild heat extraction of sugar from sugar beets, assisted by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 102, 340–347.
- Praporscic, I., Ghnimi, S and Vorobiev, E., 2005. Enhancement of pressing of sugar beet cuts by combined ohmic heating and pulsed electric. *Journal of Food Processing and Preservation* 29, 378–389
- Pue'rtolas, E., Condo' n, S., Raso, J. & A'lvarez, I., 2009, Enhancement of the solid-liquid extraction of sucrose from sugar beet (*Beta vulgaris*) by pulsed electric fields. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1674–1680.
- Schneider, F. 1968. Technologie des zuckers. Zweite auflage. Verlag M, H. Schaper Hannover.
- Silin, P.M., 1967. Sugar Technology, second ed. Izdatelstvo Pischevaya Promyshlennost, Moskow (in Russian).
- Van der Poel, P.W., Schiweck, H., Schwartz, T., 1998. *Sugar Technology*. Beet and Cane Sugar Manufacture. Verlag Dr. Albert Bartens KG, Berlin.
- Werner, E., 1966, Zuckertechniker taschenbuch. Berlin.

## Study of effect of blade edge on sucrose extraction of sugar beet and quality of raw juice

M. Naghi pourzadeh Mahani<sup>1</sup>, M. H. Aghkhani<sup>2\*</sup>, Kh. Behzad<sup>3</sup>, A. Rouhani<sup>4</sup>

Received: 2016.06.29

Accepted: 2017.01.16

**Introduction:** Conventional technology of sugar production from sugar beet roots consists of the next subsequent steps: sugar beet slicing, thermal denaturation of the sliced beet roots followed by diffusion in hot water at 70–75 °C, purification of extracted juice by lime, concentration of purified juice and crystallization. The diffusion process is one of the most important steps that effect on product yield. The quality of cossettes is too important that increase extraction yield. Therefore the main function of the beet-slicing operation is to improve the diffusion operation. The most important factors in producing quality cossettes are the type of knives. Most knives have a V shape that cause increase of the surface area of the beets. At slicing operation, Amount of the sucrose of beet extract directly. Considering the blade edge causes the rupture of beet cell so it effects on quality of juice and yield of extraction. Also the different blades edge causes different surface areas that effect on osmotic operation. In this work, the effect of two kinds of blades (serrate and flat edge) is studied on extraction process and the juice quality.

**Material and method:** Fresh sugar beets (*Beta vulgaris*) were obtained from Ferdowsi university farm and storage at 5°C. For each test run, 300gr of cossette 4mm thickness and 8cm in length were cut by cutting device with ability of blade change. The sucrose content of cossettes was measured in ICUMSA method. These tests were organized as follows 4 steps. The first step was washing. Considering amount of sucrose of sugar beet extract directly at slicing operation, the decrease of sucrose content of cossettes and the sucrose of washing juice should be measured. For this stage, 120gr of cossettes were washed with 320gr of distilled water. After washing the cossettes, the sucrose content of cossettes was measured again and the decrease of sucrose content of cossettes was calculated and sucrose of washing juice was measured. For the thermal-pretreatment step, 130gr of sugar beet cossettes were treated with 260gr of distilled water 70°C at 7min and the sucrose of thermal-pretreatment juice was measured. In the diffusion step, 130gr of these cossettes were immersed in 260gr of distilled water 73°C. The solute concentration (Brix, g solubles 100 g<sub>-1</sub> juice) was measured by digital refractometre (PR-101, Atago, 50 Kyo, Japan) every 5 to 10 min up to equilibrium conditions. The final step was pulp pressing. The pulps were compressed by laboratory press (2 bar) at 15min. following by the pressed pulp was weight then the sucrose content of them was measured. In the following, purity and nonsucrose of juice were determined for washing, thermal-pretreatment and diffusion steps. These parameters were measure in ICUMSA unit which is based on polarimeter method. Also extraction yield of diffusion, mass of extraction sucrose and extraction sucrose at diffusion, pressed pulp yield, extraction degree and energy were calculated. The data were analyzed in 2-sample t-test at minitab17 and the graphs were drew in excel.

**Results and discussion** The results showed that the edge of the baled had significant effect on the juice purity (washing and thermal-pretreatment steps), non-sucrose content and sucrose of juice, extracted sucrose at cutting operation, extracted sucrose at diffusion, degree of extraction, yield of pulp, time and energy ( $P < 0.05$ ). The most juice purity was obtained from flat blade with 78.33%, 84.86% and 85.52% at washing, pretreatment and diffusion steps respectively. Also the least of non-sucrose content was obtained from this blade with 0.1%, 0.55% and 0.51% at washing, pretreatment and diffusion steps respectively. The serrate blade increase the tearing (rupturing) of the beet cells at slicing operation. Torn cells allow more impurities (nonsugars) to be diffused into the surrounding juice, causing an increase in nonsugars and, consequently, a reduction in juice

4, 2 and 4. Ph.D candidate, Professor and Assistant professor, Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.

3. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.

(\*Corresponding author: aghkhani@um.ac.ir)

purity. For the serrated blade, The most extracted sucrose at cutting operation and diffusion step, mass of sucrose of diffusion juice and degree of extraction were obtained 14.5%, 94.4%, 7.22 gr and 0.19 respectively that compare to another blade is more. The edge of serrate blade increases the surface area of cossettes compare to use of flat blade. The surface area is one of the most important parameter to improve osmotic operation. The more contact area between the beet cells and the water in the diffuser cause the more movement of sugar from the cells to the diffusion juice. Therefore the use of the serrate blade improves the osmotic operation and enhances the extracted sucrose. The least of pulp yield, extraction time and energy were obtained 27.97%, 40 min and 1.7 Kw/h respectively for this blade. The increase of sucrose extraction reduces the pulp yield. As regards osmotic operation improve with the increase of surface area cossettes, therefore the sucrose extract at less time and the total energy decrease. Regarding to the results, both of blades improve some of the extraction parameters.

**Key words:** Sucrose Extraction, Cossette, Sugar Beet, Blade

## کوتاه پژوهشی

### بررسی تاثیر نگهداری سرد ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) بر خصوصیات

### کیفی سوریمی تولیدی

بهاره شعبانپور<sup>۱\*</sup>، منصوره نیری<sup>۲</sup>، زینب نوری هاشم آباد<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۲۵

## چکیده

در این پژوهش، تغییرات میکروبی، شیمیایی و حسی سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ نگهداری شده در یخ به مدت ۱۶ روز مورد بررسی قرار گرفت. میزان شاخص بازالهای از ته فرار، تیوباریتوریک اسید، رطوبت تحت فشار، حلالیت پروتئین، سفیدی، قابلیت تا شدن، pH و بار میکروبی (بار باکتریایی کل و سرمادوست) سوریمی اندازه گیری شد. آنالیزهای حسی با ارزیابی پارامترهای طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی نمونه های سوریمی انجام گرفت. این آزمایش ها در یک دوره زمانی ۱۶ روزه در فواصل روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ انجام شد. بر اساس نتایج بدست آمده میزان بازالهای از ته فرار از ۱۳/۰۶ در روز صفر به ۲۹/۸ میلی گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه، تیوباریتوریک اسید از ۳۹/۹۶ میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم نمونه، رطوبت تحت فشار از ۱۲/۱۸ به ۳۰/۴۹ درصد، pH از ۷/۰۶ به ۷/۴۱، بار باکتریایی کل از ۴/۰۵ به ۹/۱ log cfu/g و بار باکتریایی سرمادوست از ۳/۷۵ به ۸/۶۴ cfu/g در روز ۱۶ نگهداری رسید. میزان حلالیت پروتئین و سفیدی طی مدت نگهداری بطور معنی داری دارای روند نزولی بود و به ترتیب از ۹۳/۲۱ درصد و ۸۴/۴ در روز صفر به ۶۷/۷۵ درصد و ۷۳/۶ در روز ۱۶ نگهداری کاهش یافت و قابلیت تا شدن از امتیاز AA در روز صفر نگهداری به امتیاز C در آخرین روز نگهداری رسید. بر اساس نتایج آزمون های میکروبی و حسی ماهی فیتوفاگ از روز ۱۲ نگهداری به بعد کیفیت خود را از نظر تولید سوریمی مناسب از دست داده بود.

**واژه های کلیدی:** سوریمی، فیتوفاگ، نگهداری در یخ، ماندگاری

## مقدمه

(1997). اما این ماهی در رقابت با ماهیان خوش خوراک تر، به دلیل وجود استخوان های زیاد در قسمت خوراکی (Barrera et al., 2002)، ماهی کم مصرفی محسوب می گردد، بنابراین تولید فرآورده های متنوع از این ماهی برای ترویج مصرف آن ضروری به نظر می رسد، سوریمی<sup>۲</sup> یکی از روش هایی است که امروزه برای افزایش مصرف ماهیانی چون فیتوفاگ پیشنهاد می گردد (شعبانپور و همکاران، ۱۳۸۶). سوریمی اصطلاح ژاپنی است و به گوشت چرخ شده و شسته شده ی ماهی که کنسانتره ی پروتئین های میوفیبریل است گفته می شود، این شستشو منجر به خروج بسیاری از مواد محلول در آن می شود (Sultanbawa & Li- chan, 1998). تازگی و کیفیت اولیه ماهی از مهم ترین عوامل مؤثر بر کیفیت سوریمی است (Phatcharat et al., 2006). درجه حرارت پایین نگهداری، بخصوص نگهداری در یخ، یکی از مناسب ترین روش ها برای سردسازی و حفظ کیفیت ماهی است (Benjakul et al., 2002)، اگرچه تغییرات شیمیایی، میکروبی

آزبان به عنوان غذای سالم به دلیل برخورداری از پروتئین بالا (۱۱ تا ۲۴ درصد) با قابلیت هضم ۹۶٪ از اهمیت بسزایی در جیره غذایی مردم جهان برخوردارند (عادلی، ۱۳۸۶). ماهی فیتوفاگ با نام علمی (*Hypophthalmichthys molitrix*) از مهم ترین گونه های آب شیرین است که به علت هزینه تولید پایین آن، رشد سریع و مقاومت در برابر بیماری و استرس به میزان زیادی در سیستم پرورش توأم ماهیان پرورش می یابد (Siddaiah et al., 2001; Luo et al., 2008). این ماهی جزء ماهیان سفید گوشت است، که با میزان چربی کم، رنگ و حالت ارتجاعی مناسب در گوشت، از پتانسیل ویژه ای جهت تولید محصولات مختلف شیلاتی برخوردار است (Sheviklo, ۱، ۲ و ۳- استاد، دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

(\*) - نویسنده مسئول: (Email: b\_shabanpour@yahoo.com)

DOI: 10.22067/ijfstr.v1395i0.40216

تیوباریتوریک اسید به روش Siripatrwa و Noipha (۲۰۱۲)، بازهای ازته فرار به روش Goulas و Kontominas (۲۰۰۵)، مقادیر حلالیت پروتئین و رطوبت تحت فشار به روش Rawdkuen و همکاران (۲۰۰۹)، pH به روش Suvanich و همکاران (۲۰۰۰) و مقادیر سفیدی به روش Kristinsson و همکاران (۲۰۰۵) با استفاده از دستگاه رنگسنج مدل Lovibond CAMsystem500 model محاسبه و تعیین شد.

### اندازه‌گیری خاصیت تولید ژل

#### آماده‌سازی ژل

۱۰۰ گرم نمونه سوریمی با ۳٪ وزنی نمک خرد گردید (شعبانپور و همکاران، ۱۳۸۵). خمیر تولیدی پس از هواگیری دستی به پوشش سوسیس ۵ لایه پلی‌آمیدی با قطر ۲۵ میلی‌متر انتقال داده شد (Lanier, 1992). نمونه تهیه شده به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، در بن ماری پخته شده و پس از اتمام پخت سریعاً با تعلیق در آب سرد، سرد شده و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد (Jafarpour & Gorczyca, 2008).

#### ارزیابی ژل

ژل‌های تولیدی از یخچال خارج و قبل از ارزیابی برای رسیدن به دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند. آزمایش قابلیت تا شدن ژل به روش استاندارد ژاپنی انجام گرفت (Lanier, 1992). شش قطعه ژل با ضخامت ۳ تهیه گردید و مورد آزمون قرار گرفت. نمونه‌های سوریمی در صورت دو بار تا شدن بدون هیچ‌گونه ترک یا شکستگی کیفیت AA با امتیاز ۵، یکبار تا شدن کیفیت A با امتیاز ۴، شکسته شدن تدریجی ژل پس از تا شدن کیفیت B با امتیاز ۳، شکسته شدن ژل به دو قسمت کیفیت C با امتیاز ۲ و خرد شدن ژل با فشار انگشتان بدون تا کردن کیفیت D با امتیاز ۱ را به خود اختصاص دادند.

#### آزمون میکروبی نمونه‌ها

بار باکتریایی نمونه‌ها با هموژن کردن ۱۰ گرم نمونه در ۹۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۹ درصد کلرید سدیم در شرایط استریل آغاز شد. از این محلول جهت تهیه رقت‌های متوالی استفاده شد. کشت باکتریایی مورد نظر با ریختن میزان مشخصی از نسبت‌های بدست آمده در پلیت‌های یکبار مصرف استریل و ریختن محیط کشت آگار بر آن صورت گرفت. برای شمارش کلنی‌های باکتریایی کل پلیت‌های تهیه شده به مدت ۲ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و برای باکتری‌های سرمادوست به مدت ۷ روز در ۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

و فیزیکی در هنگام نگهداری در یخ بطور کامل متوقف نمی‌شوند (Riebroy et al., 2007 ; Benjakul et al., 2003). هدف از این تحقیق بررسی حداکثر طول مدت نگهداری ماهی فیتوفاگ در یخ برای تولید سوریمی با کیفیت مطلوب و اثر طول دوره نگهداری بر روی کیفیت سوریمی تهیه شده از این ماهی در هنگام نگهداری در یخ می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

#### ۲۵ کیلوگرم ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys*)

*molitrix* بصورت تازه از بازارچه ماهی گرگان خریداری شد و پس از قرار گرفتن در جعبه‌های یونولیت حاوی یخ پودر شده، در فاصله زمانی ۱۵ دقیقه به آزمایشگاه فرآوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که محل انجام پژوهش بود، منتقل گردید. سپس ماهیان در فواصل زمانی ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ روز پس از فرآیند آماده‌سازی اولیه تبدیل به سوریمی شدند و مورد ارزیابی‌های میکروبی (بار باکتریایی کل و بار باکتریایی سرمادوست)، شیمیایی و حسی قرار گرفتند.

#### روش تهیه سوریمی

برای تولید سوریمی ابتدا ماهیان بطور کامل با آب سرد شستشو گردیدند. سپس بصورت دستی، عمل سرزنی و تخلیه امعاء و احشاء صورت پذیرفت. ماهیان سرزده و شکم خالی مجدداً شستشو گردیدند و به دستگاه استخوان‌گیر<sup>۱</sup> انتقال داده شدند. عمل استخوان‌گیری در این دستگاه به شکلی انجام شد که کلیه استخوان‌های ستون مهره‌ها و دنده‌ها و پوست ماهی جداسازی شده و گوشت چرخ شده خالص بدون استخوان و پوست فراهم شد. مقادیر مناسبی از گوشت چرخ شده ماهی با نسبت گوشت به آب ۱:۳ درون یک ظرف شستشو ریخته و فرآیند شستشو ۴ بار و هر مرتبه به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و در تمام مدت زمان شستشو دمای آب مورد استفاده به دلیل استفاده از یخ زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد بوده و عمل بهم‌زدن بدون وقفه صورت گرفت. در دو مرحله آخر شستشو برای آبگیری بهتر و آسان‌تر گوشت از ۳/۰ درصد نمک طعام استفاده و عمل آب‌گیری از مخلوط با تنظیف ۲ لایه بصورت دستی انجام شد (شعبانپور و همکاران، ۱۳۸۶).

#### آزمایش‌های شیمیایی

این آزمون‌ها در آزمایشگاه شیمی واقع در دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. شاخص

شمارش کلنی‌ها بر مبنای  $\log_{10} \text{cfu/g}$  بیان گردید (Sallam, 2007).

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای ارزیابی پارامترهای کیفی شامل رنگ، بو، طعم و پذیرش کلی نمونه‌ها از مقیاس هدونیک (با اندکی تغییر) استفاده شد. به منظور انجام آزمایشات از یک گروه پانل متشکل از ۱۰ نفر استفاده گردید و نحوه بررسی نمونه‌ها به آن‌ها آموزش داده شد. نمونه‌ها ابتدا توسط اعضای پانل، از نظر بو و رنگ مورد ارزیابی حسی قرار گرفتند و سپس طعم همان نمونه‌ها، پس از پخت در دستگاه بخارپز خانگی<sup>۱</sup>، توسط همان گروه بررسی شد (شعبانپور و همکاران، ۱۳۸۶). سطوح کیفی مورد استفاده شامل خیلی خوب با امتیاز ۷، خوب با امتیاز ۵، قابل قبول با امتیاز ۳، بد با امتیاز ۱ و بسیار بد با امتیاز ۰ بوده است (شعبانپور و همکاران، ۱۳۸۶). نتایج حاصله با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه به کمک نرم‌افزار SPSS 16 تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل صورت پذیرفت. برای داده‌های بدست آمده از ارزیابی حسی از Mann-Whitney U test آزمون غیرپارامتریک استفاده شد.

### نتایج و بحث

یکی از خواص کاربردی پروتئین‌های میوفیبریل حلالیت در آب نمک است. دنا توره شدن یا تغییر ماهیت پروتئینی سبب کاهش و از بین رفتن این خاصیت می‌شود. سنجش میزان حلالیت پروتئین‌های محلول در نمک یک شاخص مناسب برای اندازه‌گیری میزان دنا توره شدن پروتئین‌ها در طی مدت نگهداری می‌باشد (Benjakul et al., 2002). در تحقیق حاضر نتایج نشان داد که میزان حلالیت پروتئین‌های محلول در نمک، کاهش معنی‌داری در طول دوره نگهداری داشته است، زیرا در هنگام نگهداری در سرما تشکیل کریستال‌های یخ، غلظت املاح معدنی در سلول‌های عضلانی افزایش می‌یابد. این افزایش که با تغییر pH و تغییر قدرت یونی همراه است سبب می‌شود تا پروتئین‌ها تفکیک شده و تغییر ماهیت دهند (رضوی شیرازی، ۱۳۸۰) و در نتیجه حلالیت پروتئین‌ها کاهش می‌یابد. در تحقیق انجام شده بر روی سوریمی گربه ماهی کانالی نگهداری شده در یخچال نیز نتایج نشان داده است که میزان حلالیت پروتئین در طول دوره نگهداری کاهش یافته است (Suvanich et al., 2000).

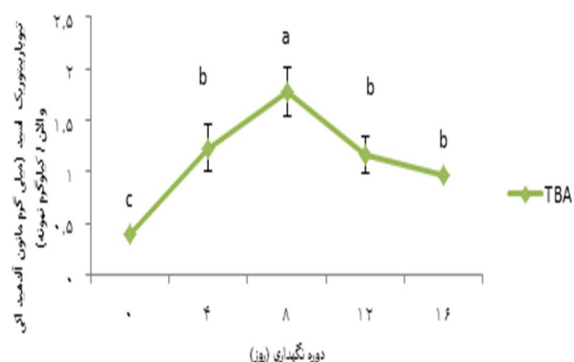
در مطالعه حاضر شاخص‌های شیمیایی، میکروبی و حسی سوریمی ماهی فیتوفاگ نگهداری شده در یخ به مدت ۱۶ روز بطور قابل ملاحظه‌ای تغییر یافت که حاکی از افت کیفیت محصول بویژه

در اثر فرآیندهای اکسیداتیو است. مواد اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) ناپایدار و مستعد تجزیه می‌باشند و به محصولات ثانویه‌ای نظیر آلدهیدها شکسته می‌شوند. در شکل ۱ تغییرات میزان تیوباریتوریک اسید سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ طی نگهداری در یخ به مدت ۱۶ روز مشاهده می‌شود. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان تیوباریتوریک اسید تا روز ۸ نگهداری افزایش و پس از آن تا پایان دوره نگهداری کاهش یافته است. در روزهای ۴، ۱۲ و ۱۶ نگهداری تفاوت معنی‌داری به لحاظ آماری در میزان تیوباریتوریک اسید مشاهده نشد ( $p \leq 0.05$ ). (Shahidi و Zhong, ۲۰۰۵)، Stamman و همکاران (۱۹۹۰) نیز گوشت ماهی به دلیل داشتن مقادیر فراوان اسیدهای چرب غیراشباع، مستعد واکنش‌های اکسیداتیو معرفی نموده بودند. در این تحقیق روند افزایش تیوباریتوریک اسید تا روز ۸ نگهداری ادامه داشت. این افزایش ممکن است به دلیل آسیب‌های بافتی در طول دوره نگهداری باشد. زیرا آسیب‌های بافتی (عدم پایداری غشاء سلول) سبب می‌گردد تا تماس واکنش‌دهنده‌ها با یکدیگر بیشتر شده، سرعت و شدت انجام واکنش افزایش یابد (رضوی شیرازی، ۱۳۸۰). اما در مطالعه حاضر در روز ۱۲ و ۱۶ نگهداری میزان تیوباریتوریک اسید کاهش پیدا کرد که می‌تواند به دلیل شکست و تجزیه مالون آلدهید به سایر مواد (آلدهیدها و کتون‌ها) باشد (Aubourg et al., 1998; Woyewoda et al., 1986). در مطالعه بر روی سوریمی ماهی ماکرل نگهداری شده در یخ، نتایج نشان داده است که میزان تیوباریتوریک اسید تا روز نهم نگهداری افزایش معنی‌داری داشته است، اما پس از آن کاهش یافته است (Balang et al., 2009).

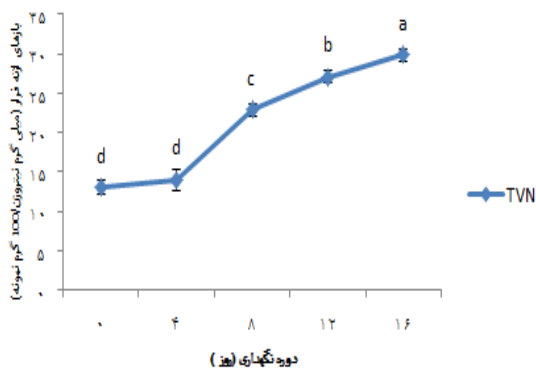
تغییرات بازهای ازته فرار سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ طی نگهداری در یخ به مدت ۱۶ روز در شکل ۲ مشاهده می‌شود. میزان این شاخص در روزهای مختلف نگهداری روند افزایشی داشته است. میزان بازهای ازته فرار در روز صفر نگهداری ۱۳/۰۶ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه و در روز ۱۶ نگهداری ۲۹/۸ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه بود ( $p \leq 0.05$ ). مطابق با نتایج گزارش شده میزان بازهای ازته فرار در روز ۱۲ نگهداری از حد مجاز (۲۵) میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه) خارج شد که نتایج حاصله همسو با نتایج Balang و همکاران (۲۰۰۹) است که با افزایش مدت زمان نگهداری تجزیه ترکیبات افزایش نیتروژنی را گزارش نموده بودند. شکل‌گیری بازهای ازته فرار عموماً وابسته به رشد میکروب‌هاست و به‌عنوان شاخص فساد بکار برده می‌شود. (Benjakul et al., 2002). در ارزیابی کیفیت ماهی ساردین در زمان نگهداری در یخ نتایج مشابهی گزارش شده بود که نشان داد میزان بازهای ازته فرار با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت (Erkan et al., 2008).

میزان حلالیت پروتئین سوریمی ماهی فیتوفاگ با افزایش مدت

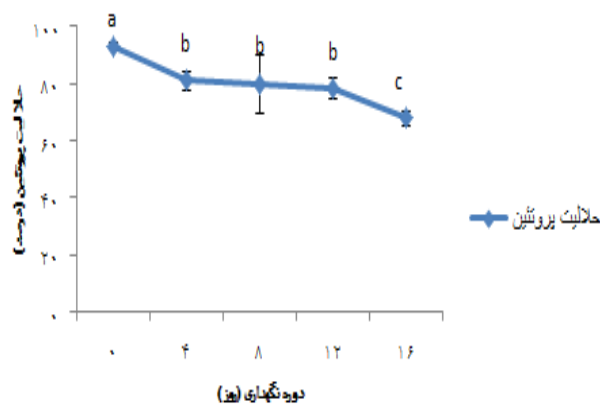
زمان نگهداری در یخ دارای روند کاهشی بود. در روزهای ۴، ۸ و ۱۲ مشاهده نشد ( $p \leq 0.05$ ) (شکل ۳).  
نگهداری در میزان حلالیت پروتئین سوریمی تفاوت معنی‌داری



شکل ۱- تغییرات میزان تیوباربیتوریک اسید (TBA) سوریمی تهیه شده از فیتوفاگ طی نگهداری در یخ به مدت ۱۶ روز  
(a-c) حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵



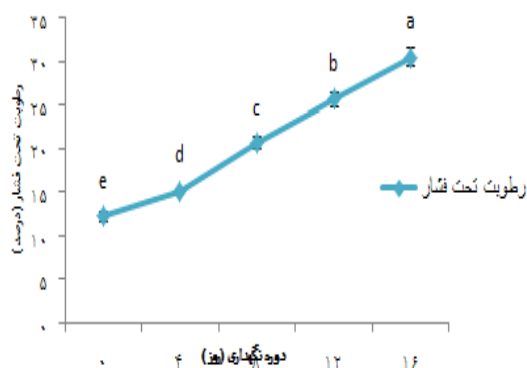
شکل ۲- مقادیر بازهای از ته فرار (TVN) در سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ نگهداری شده در یخ به مدت ۱۶ روز  
(a-d) حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵



شکل ۳- نمودار مقادیر حلالیت پروتئین در سوریمی تهیه شده از فیتوفاگ نگهداری شده در یخ به مدت ۱۶ روز  
(a-c) حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵

۵). اگرچه دامنه تغییرات در بین روز صفر و روز ۱۶ نگهداری کم و حدود ۰/۳۵ بود، اما در تمام روزهای نگهداری این تغییرات معنی‌دار بود ( $p \leq 0/05$ ). بطور کلی روند تغییرات pH در طی ۱۶ روز نگهداری در یخ، افزایش معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ داشته است. با توجه به نتایج سایر محققین در هنگام تولید سوریمی فرآیند شستشو سبب خارج شدن اسیدهای چرب آزاد، اسیدهای آمینه آزاد و لاکتیک اسید یا دیگر مواد اسیدی محلول در آب می‌شود که می‌تواند دلیلی برای بالا بودن pH سوریمی باشد (Suvanich *et al.*, 2000). در مطالعه حاضر مقدار این شاخص در طول دوره نگهداری افزایش پیدا کرد. افزایش pH در طول دوره نگهداری را می‌توان به علت افزایش بازهای ازته فرار که توسط فعالیت آنزیم‌های باکتریایی و آنزیم‌های درونی ماهی تولید می‌شود، نسبت داد (Benjakul *et al.*, 2002 & Etemadian, 2003; Riebroy *et al.*, 2009). در بررسی فیله‌های ماهی سفید نگهداری شده در یخ، روند افزایشی pH را در طی نگهداری گزارش دادند که با نتایج این پژوهش همخوانی و مطابقت دارد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری رطوبت تحت فشار سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ نگهداری شده در یخ در شکل ۴ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که درصد رطوبت تحت فشار سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ طی ۱۶ روز نگهداری در یخ همواره افزایش معنی‌داری را داشته است ( $p \leq 0/05$ ). میزان این شاخص از ۱۲/۱۸ در روز صفر به ۳۰/۴۹ در روز ۱۶ افزایش یافت. تفاوت در میزان رطوبت تحت فشار در تمام روزهای نگهداری معنی‌دار بود ( $p \leq 0/05$ ). در این تحقیق میزان رطوبت تحت فشار در کل دوره روند افزایشی داشته است زیرا پروتئین‌های میوفیبریل که مسئول نگهداری آب در بافت می‌باشند، در زمان نگهداری دناتوره شده و در ساختار آن‌ها تغییر ایجاد می‌شود که سبب کاهش ظرفیت نگهداری آب آن‌ها شده و در نتیجه رطوبت تحت فشار افزایش می‌یابد (Smith, 1987). در نتایج Balang و همکاران (۲۰۰۹) بر روی سوریمی تهیه شده از ماهی ماکرل نگهداری شده در یخ نیز نشان داده شده است که میزان رطوبت تحت فشار در طول دوره نگهداری افزایش یافته است. تغییرات میزان pH در سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ طی مدت زمان نگهداری در یخ، دامنه‌ای بین ۷/۰۶ تا ۷/۴۱ داشت (شکل



شکل ۴- نمودار مقادیر رطوبت تحت فشار در سوریمی تهیه شده فیتوفاگ نگهداری شده در یخ به مدت ۱۶ روز (a-e) حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵

در هنگام شستشو خارج شوند. بنابراین سوریمی تهیه شده از ماهی که مدت زمان بیشتری در یخ مانده است، دارای سفیدی کم‌تری است. نتایج بررسی‌های قبلی نیز نشان می‌دهد با گذشت زمان نگهداری ماهی خون و مایعات اندام‌های داخلی، بطور کامل در ماهیچه نفوذ می‌کنند به خصوص زمانی که در اثر اتولیز ساختار ماهیچه‌ها از بین رفته باشد. بنابراین با افزایش زمان نگهداری میزان سفیدی کاهش می‌یابد (Haard *et al.*, 1994). Balang و همکاران (۲۰۰۹) نیز در بررسی سوریمی ماهی ماکرل نگهداری شده در یخ، روند کاهشی میزان سفیدی را گزارش کردند که موید نتایج این پژوهش است. آزمون قابلیت تا شدن از مهمترین تست‌ها برای بررسی میزان

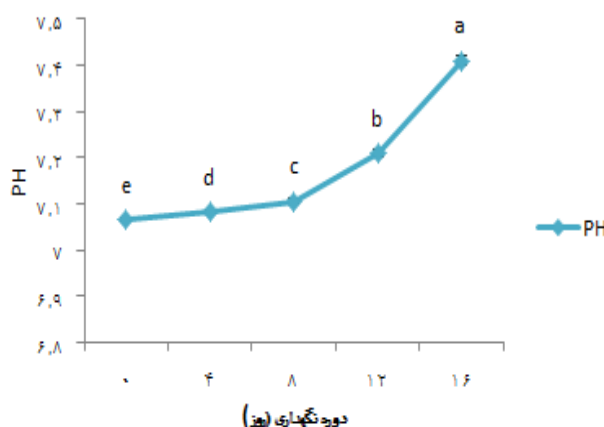
میزان سفیدی یکی از فاکتورهای تعیین‌کننده کیفیت سوریمی است. نتایج گزارش شده میزان این شاخص را بین ۸۴/۴ تا ۷۳/۷ نشان می‌دهد که بیانگر تغییرات میزان سفیدی در سوریمی تهیه شده از فیتوفاگ نگهداری شده در یخ به مدت ۱۶ روز بود (شکل ۶). با توجه به آزمون‌های آماری میزان سفیدی نمونه‌های سوریمی، کاهش معنی‌داری را داشته است ( $p \leq 0/05$ ). از روز ۸ تا ۱۲ نگهداری در میزان سفیدی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد در مطالعه حاضر میزان سفیدی با گذشت زمان نگهداری کاهش یافت. زیرا در هنگام یخ‌گذاری، رنگدانه‌ها خصوصاً میوگلوبین و هموگلوبین اکسیده می‌شوند. این مواد اکسید شده با پروتئین‌ها پیوند برقرار کرده و نمی‌توانند

هر دو گروه باکتری‌های کل و سرمادوست مورد مطالعه در کل دوره، روند افزایشی داشت و در روز ۱۲ نگهداری بار باکتریایی کل و سرمادوست به ترتیب به  $7/34 \log_{10} \text{ cfu/g}$  و  $7/09 \log_{10} \text{ cfu/g}$  رسید که از حد مجاز اعلام شده بالاتر بود. مقادیر بار باکتریایی کل در ماهی سی باس کامل و فیله شده با گذشت زمان نگهداری در یخ افزایش یافت و در سی باس کامل از روز ۱۴ نگهداری و در فیله سی باس از روز ۱۰ نگهداری از حد مجاز خارج شد (Taliadourou et al., 2003).

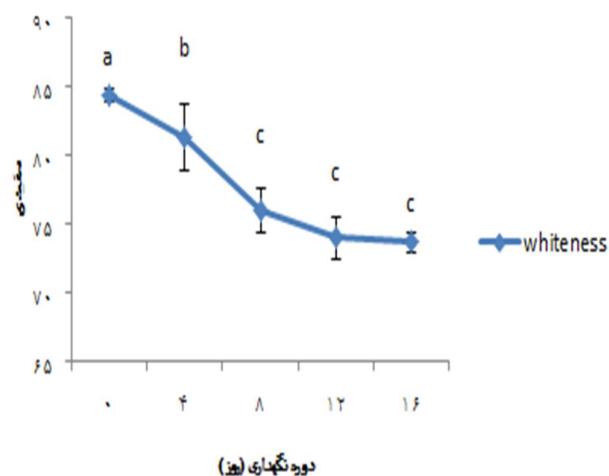
آنالیز آماری داده‌های حاصل از ارزیابی حسی سوریمی ماهی فیتوفاگ طی ۱۶ روز نگهداری در یخ نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری در یخ، امتیاز کیفی فاکتورهای مورد بررسی (طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی) کاهش می‌یابد و امتیاز کلیه آنها از روز ۱۲ نگهداری به امتیاز کم تر از ۳ رسید (شکل ۹). بسیاری از محققان ارزیابی حسی را به‌عنوان روشی مناسب برای برآورد عمر ماندگاری فرآورده‌های دریایی طی دوره نگهداری معرفی نموده‌اند (Aubourg et al., 2002; Namulema et al., 1999; Tomas & Mathen, 1995). در مطالعه حاضر حد نهایی مطلوبیت برای نمونه‌های سوریمی جهت مصرف انسانی تا امتیاز ۳ در نظر گرفته شد. نتایج بررسی‌های ارگانولپتیک سوریمی، توسط گروه پانل برای بررسی مدت ماندگاری آن‌ها و تغییرات کیفی آن‌ها در طی ۱۶ روز نگهداری در یخ نشان داد که کلیه شاخص‌های حسی نمونه‌ها (طعم، بو، رنگ، پذیرش کلی) از روز ۱۲ نگهداری به درجه عدم مقبولیت رسیدند. این نتیجه با نتایج حاصل از آزمایشات میکروبی منطبق بود. Siddaiah و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که امتیاز کیفی ظاهر، بو و بافت گوشت چرخ شده ماهی کپور نقره‌ای با افزایش نگهداری در سردخانه کاهش می‌یابد که هم جهت و موید نتایج این پژوهش است.

الاستیته ژل است. نتایج گزارش شده در مورد امتیاز کیفی قابلیت تا شدن سوریمی ماهی فیتوفاگ با افزایش مدت زمان نگهداری در یخ کاهش یافت و از امتیاز AA در روز صفر به امتیاز C در روز ۱۶ نگهداری رسید (جدول ۱) ( $p \leq 0/05$ ). در مطالعه حاضر امتیاز تا پذیری ژل ماهی فیتوفاگ از درجه کیفی AA در روز صفر به درجه کیفی C در پایان دوره نگهداری کاهش یافت. عملکرد پروتئین‌های عضلات، کاملاً به سالم بودن پروتئین وابسته بوده و بدین ترتیب تغییر ماهیت و کیفیت پروتئین در کاهش توانایی‌های آن‌ها برای انجام وظایف سهم مهمی دارد (Benjakul, 2003). از طرفی با گذشت زمان نگهداری پروتئین‌ها دناتوره شده و بنابراین توانایی تشکیل ژل آن‌ها کاهش می‌یابد. نتایج مطالعات بر روی سوریمی ماهی کپور نقره‌ای نیز به هنگام نگهداری در فریزر، نشان داده است که تاپذیری ژل ماهی کپور نقره‌ای از درجه کیفی AA به A و C در ماه سوم نگهداری کاهش می‌یابد که با نتایج این پژوهش هم جهت است (جلیلی و همکاران، ۱۳۹۱).

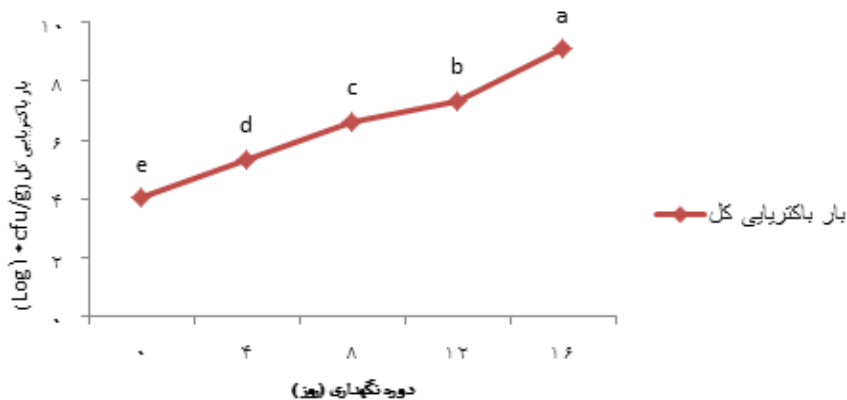
از جمله مهم‌ترین تغییراتی که در ماهی و دیگر آبزیان مشاهده می‌شود، تغییرات میکروبی است که به کمک آنزیم‌ها صورت گرفته و در نهایت نیز منجر به فساد می‌شود. بنابراین شمارش باکتری‌ها می‌تواند به‌عنوان یک شاخص کیفی مهم محسوب گردد فساد میکروبی سوریمی ماهی فیتوفاگ با اندازه‌گیری بار باکتریایی کل و بار باکتریایی سرمادوست مشخص گردید. با افزایش مدت زمان نگهداری ماهی فیتوفاگ در یخ بار باکتریایی کل و بار باکتریایی سرمادوست افزایش یافت. بطوری که کم‌ترین مقدار را در روز صفر و بیشترین مقدار را در روز ۱۶ نگهداری نشان دادند ( $p \leq 0/05$ ) (شکل ۷ و ۸) (Suvanich et al., 2000; Sikroski, 1990). افزایش بار باکتریایی کل در گوشت ماهی در طول نگهداری ثابت شده است (اجاق و همکاران، ۱۳۹۰; Fan et al 2009). در این بررسی نیز الگوی رشد



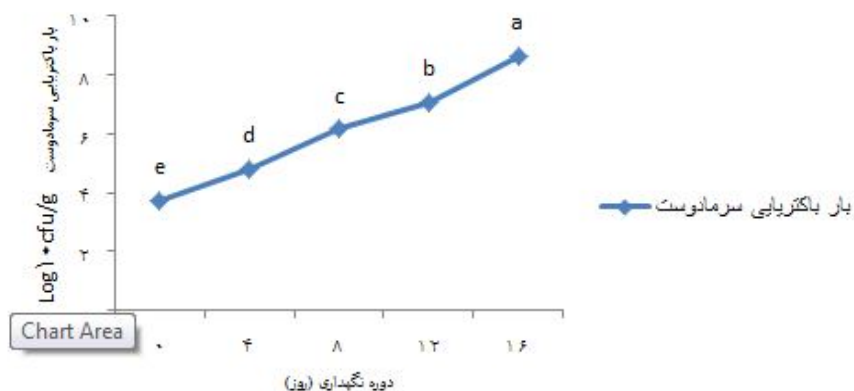
شکل ۵- نمودار مقادیر pH در سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ نگهداری شده در یخ به مدت ۱۶ روز (a-d) حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵



شکل ۶- نمودار مقادیر سفیدی در سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ نگهداری شده در یخ به مدت ۱۶ روز (a-c) حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵



شکل ۷- نمودار تغییرات بار باکتریایی کل سوریمی تهیه شده از فیتوفاگ طی نگهداری در یخ به مدت ۱۶ روز (a-e) حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵

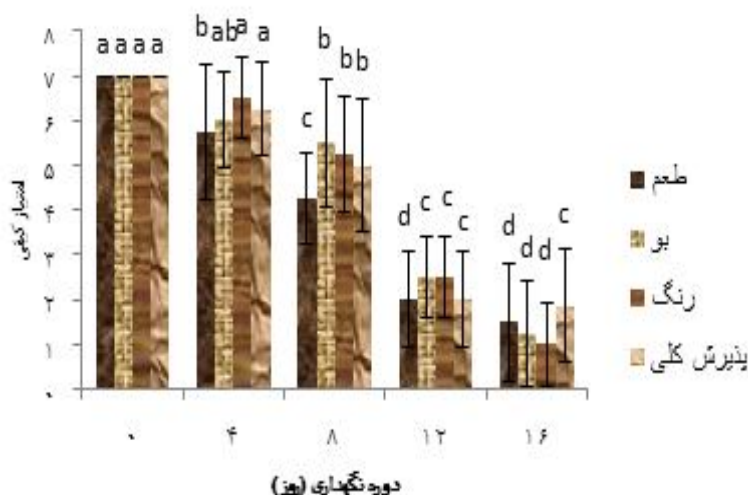


شکل ۸- نمودار تغییرات بار باکتریایی سرمادوست سوریمی تهیه شده از فیتوفاگ طی نگهداری در یخ به مدت ۱۶ روز (a-e) حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵

جدول ۱- نتایج تست تاشدگی سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ نگهداری شده در یخ به مدت ۱۶ روز

| شاخص حسی       | زمان نگهداری (روز) |
|----------------|--------------------|
| ۰              | ۴                  |
| ۱              | ۸                  |
| ۲              | ۱۲                 |
| ۳              | ۱۶                 |
| قابلیت تاپذیری | AA AA C B A        |

\* نمونه‌های سوریمی در صورت دو بار تا شدن بدون هیچ‌گونه ترک یا شکستگی کیفیت AA با امتیاز ۵، یک بار تا شدن کیفیت A با امتیاز ۴، شکسته شدن تدریجی ژل پس از تا شدن کیفیت B با امتیاز ۳، شکسته شدن ژل به دو قسمت کیفیت C با امتیاز ۲ و خرد شدن ژل با فشار انگشتان بدون تا کردن کیفیت D با امتیاز ۱



شکل ۹- مقادیر ارزیابی حسی سوریمی تهیه شده از ماهی فیتوفاگ نگهداری شده در یخ به مدت ۱۶ روز (a-d) حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵

اساس نتایج حاصل از ارزیابی حسی با افزایش مدت زمان نگهداری امتیاز کیفی شاخص‌های حسی مورد بررسی (طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی) کاهش یافت. نتایج آنالیزهای حسی و میکروبی بیانگر این بود که مدت ماندگاری ماهی فیتوفاگ در یخ برای تولید سوریمی مناسب ۸ روز است.

## نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان دادند که با افزایش مدت زمان نگهداری ماهی فیتوفاگ در یخ میزان بازهای ازته فرار، تیوباربیتوریک اسید، رطوبت تحت فشار، pH، بار باکتریایی کل و بار باکتریایی سرمادوست بطور معنی‌داری افزایش یافت. اما میزان حلالیت پروتئین، سفیدی و قابلیت تا شدن طی مدت زمان نگهداری دارای روند نزولی بود. بر

## منابع

- اجاق، س. م.، ۱۳۸۹، تاثیر استفاده از پوشش نگهدارنده کیتوزان غنی شده با اسانس دارچین بر کیفیت و ماندگاری فیله سرد شده ماهی قزل-آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پایان‌نامه دکتری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، ۱۰۵ ص.
- جلیلی، س. ح. و هم‌رنگ امشی، ع.، ۱۳۹۰، تغییرات فیزیکی، شیمیایی و کیفیت حسی ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)، مجله علمی شیلات ایران، دوره ۳، صفحات ۳۳-۴۴.
- رضوی شیرازی، ح.، ۱۳۸۰، تکنولوژی فرآورده‌های دریایی - علم فرآوری (۲)، انتشارات نقش مهر، ۲۹۲ ص.
- شعبان پور، ب.، شعبانی، ع.، معینی، س.، حامدی، م. و پورکبیره، م.، ۱۳۸۵، اثر شرایط مختلف شستشو بر ترکیب شیمیایی و خواص تولید ژل سوریمی کیلکای آنچوی (*Clupeonella engraulis formis*)، مجله پژوهش و سازندگی، دوره ۷۲ صفحات ۸۴-۹۲.
- شعبان پور، ب.، اصغرزاده، ا.، حسینی، ه. و عباسی، م.، ۱۳۸۶، تغییرات کیفیت چربی سوریمی ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys*)

- molitrix*) در زمان نگهداری به صورت منجمد. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد دوره ۱۵. شماره ۱ صفحات ۴۵-۳۲. شوپک لو، ع.، ۱۳۷۶، راهنمای تولید سوسیس و کالباس ماهی. معاونت صید و صنایع شیلاتی، ۷۸ ص. عادل، ا.، ۱۳۸۶، اصول بازاریابی و بسته‌بندی آبزیان، انتشارات تهران بینهایت، ۵.
- Aubourg, S. P., Lehmann, I., & Gallardo, J. M. 2002. Effect of previous chilled storage on rancidity development in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *Science of food & Agriculture*. 82, 1764-1771.
- Balang, A. K., Benjakul, S. & Maqsood, S. 2009. Gel strengthening effect of wood extract on surimi produced from mackerel stored in ice. *Food science*. 8, 619-627.
- Barrera, A. M., Ramirez, J. A., Gonzalez-Cabriales, J. J. & Vazquez, M. 2002. Effect of pectins on the gelling properties of surimi from silver carp. *Food hydrocolloids*. 16, 441-447.
- Benjakul, S., Chanatrasuwan, C. & Visessanguan, T., 2003, Effect of medium temperature setting on gelation characteristics of surimi from tropical fish, *Food chemistry*, 82: 567-574.
- Benjakul, S., Visessanguan, w., Riebroy, S., Ishizaki, S. & Tanaka, M. 2002. Gel-forming properties of surimi produced from bigeye snapper, *Pracanthus tayenus* & *Pmacracanthus*, stored in ice. *Science of food & Agriculture*. 82, 1442-1451.
- Erkan, N. & Ozden, O. 2008. Quality assessment of whole & gutted sadines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *Food science & tecknology*. 43, 1549-1559.
- Etemadian, Y., Shabanpour, B., Sadeghi, Mahoonak A.R., Shabani, A. & Alami, M. 2011. Cryoprotective effects of polyphosphates on *Rutilus frisii kutum* filets during ice storage. *Food chemistry*. 129, 1544-1551.
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. & Chi, Y. 2009. Effects of chitosan coating on quality & shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*. 115, 66-70.
- Goulas, A. E. & Kontominas, M. G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging & oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical & sensory attributes. *Food chemistry*. 100(1), 287-296.
- Haard, N.F., Simpson, B.K. & Sikorski, Z.E. 1994. Biotechnological applications of seafood proteins & other nitrogenous compounds. *Seafood Proteins*. 13, 194-216.
- Jafarpour, A. & Gorczyca, E. M. 2008. Alternative techniques for producing a quality surimi & kamaboko from common carp (*Cyprinus carpio*). *Food Science*. 9, 415-424.
- Kristinsson, H., Theodore, A. E., Demir, N. & Ingadottir, B. 2005. A comparative study between acid- & alkali-aided processing & surimi processing for the recovery of proteins from Channel catfish muscle. *Food science*. 4, 298-306.
- Kristinsson, H. & Liang, Y. 2006. Effect of pH-shift processing & surimi processing on Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*) muscle proteins. *Food Science*. 5, 304-312.
- Lanier, T.C. 1992. Measurement of surimi composition & functional properties. pp: 123-163. In: Surimi Technology. Eds., Lanier, T.C. & Lee, C.M., Marcel Dekker, Inc., New York.
- Luo, Y., Shen, H., Pan, D. & Bu, G. 2008. Gel properties of surimi from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) as affected by heat treatment soyprosolate. *Food hydrocolloids*. 22, 1513-1519.
- Namulema A., Muyonga J.H. & Kaaya A. N. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 & -27°C. *Food research international*. 32, 151-156.
- Phatcharat, S., Benjakul, S. & Visessanguan, W. 2006. Effect of washing with oxidising agents on the gel forming ability & physicochemical properties of surimi produced from bigeye snapper (*Pracanthus tayenus*). *Food Chemistry*. 98, 431-439.
- Rawdkuen, S., Sai-ut, S., Khamsorn, S., Chaijan M. & Benjakul, S. 2009. Biochemical & gelling properties of tilapia surimi & protein recovered using an acid-alkaline process. *Food Chemistry*. 112, 112-119.
- Riebroy, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. & Tanaka, M. 2007. Effect of iced storage of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) on the chemical composition, properties & acceptability of Som-fug, a fermented Thai fish mince. *Food Chemistry*. 102, 270-280.
- Sallam, K. I. 2007. Antimicrobial & antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, & sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*. 18 566-575.
- Siddaiah, D., Vidya Sagar Reddy, G., Raju, C.V. & Ch&rasedkhar, T. C. 2001. Change in lipids, proteins & Kamaboko forming ability of Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) mince during frozen storage. *Food Research International*. 34, 47-53.
- Siripatrawan U. & Noipha S. 2012. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. *Food hydrocolloids*. 27, 102-108.
- Sikorski, Z., Kolakowska, A. & Burt, J.R. 1990. Postharvest biochemical & microbial changes, In: Sikorski ZE, editor. Seafood: resources, nutritional composition & preservation, Boca Raton, Fla.: CRC Press. 55-7.
- Shahidi, F. & Zhong, Y. 2005. Lipid oxidation: measurement methods (6th Ed.), Memorial University of Newfoundl&, Canada. 357-385.
- Smith, D.M. 1987. Functional & biochemical changes in deboned turkey due to frozen storage & lipid oxidation. *Food Science*. 52, 22-27.

- Stamman, K., Gerdes D. & Caporaso F. 1990. Modified atmosphere packaging of seafood. *Food Science*. 29, 301-31.
- Sultanbawa, Y. & Li-Chan, E.C.Y. 1998. Cryoprotective effects of sugar & polyol blends in lingcod surimi during frozen storage. *Food Research International*. 2, 87-98.
- Suvanich, V., Jahncke, M. L. & Marshall, D.L. 2000. Changes selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill & frozen storage. *Food Science*. 1, 24-29.
- Taliadourou, D., Papadopoulos, V., Domvridou, E., Savvaidis, L.N. & Kontominas, M.G. 2003. Microbiological, chemical & sensory changes of whole & filleted Mediterranean aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Science of food & Agriculture*. 83, 1373-1379.
- Tomas, F. & Mathen, C. 1995. Effect of delay in icing on quality & shelf life of fish in India. *Fishery technology*. 2, 93-98.
- Woyewoda, A. D., Shaw, S. J., Ke, P. J. & Burns, B. G. 1986. Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. *Canadian technical report of fish & aquatic science*. 1448p.

## Brief report

### Study the quality of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) Surimi during the ice storage.

B. Shabanpour<sup>1\*</sup>, M. Neirizi<sup>2</sup>, Z. Noori Hashemabad<sup>3</sup>

Received: 2014.10.10

Accepted: 2015.03.16

**Introduction:** Surimi is one of the procedures that nowadays it is suggested to increase the consumption of fish such as silver carp (Shabanpour et al., 2008). Surimi is washed and minced fish meat myofibrillar concentration of proteins, this would wash out most of the soluble material in surimi (Sultanbawa & Li- chan, 1998). Raw fish freshness and quality of the most important factors affecting the quality surimi (Phatcharat et al., 2006). Low-temperature storage, especially storage in ice, one of the most suitable criteria for refrigeration methods and maintain the quality of fish (Benjakul et al., 2002), although changes in chemical, biological and physical on the ice completely stopped when maintenance is not are (Benjakul et al., 2003; Riebroy et al., 2007). The aim of this study was to evaluate the maximum duration of storage of silver carp in ice for surimi production with high quality and efficacy during storage on the quality of surimi made from these fish when kept in ice.

**Materials and methods:** Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* fish at intervals of 0, 4, 8, 12 and 16 days after initial preparations into surimi process and the assessments of microbial (bacterial load and total bacterial load of cool), chemical and sensory respectively.

#### **Chemical experiments:**

Thiobarbituric acid method Siripatrawa and Noipha (2012), volatile nitrogen bases by Goulas and Kontominas (2005), protein solubility and humidity values of pressure Rawdkuen et al (2009), pH Suvanich method and colleagues (2000). White index by Kristinsson et al (2005) using a colorimeter Lovibond CAMsystem500 model model was calculated and determined.

#### **Measuring the properties of gel production:**

Preparation Gel by (Jafarpour & Gorczyca, 2008) and evaluation gel by (Lanier, 1992) were done .

Microbial testing of samples was done according to (Sallam, 2007)

#### **Sensory analysis of samples:**

To assess quality parameters include color, odor, taste and overall acceptance of samples of hedonic scale (slightly modified) was used. In order to test a panel group consisted of 10 people consisted of very good quality Grdydstvh use with a score of 7, well with a score of 5, acceptable with a score of 3, bad and very bad rating with a score of 0 is 1 (Shabanpour and et al., 1386.)

#### **Data analysis:**

The results of ANOVA using SPSS 16 software analysis and comparison of data using Duncan's multiple range test was 0/05 Sensory evaluation and analysis of non-parametric Mann-Whitney U test was used to test.

**Results and Discussion:** The research results showed that the solubility of proteins soluble salt (because ice crystals formed during cold storage the concentration of mineral salts in muscle cells increases), protein solubility, chemical indicators, microbial and sensory surimi (Due to raw materials oxidation (hydroperoxides) secondary unstable and prone to decomposition products such as aldehydes), White indicator, the ability to get qualitative rating factors evaluated (taste, odor, color and overall acceptability) negative trend and Percent moisture (Because denaturation of proteins myofibrils), microbial changes, changes in pH (Due to volatile

1, 2 and 3- Professor, MSc Student and PhD Student, Sea food processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan. Iran.

(\*Corresponding author: b\_shabanpour@yahoo.com)

nitrogen bases), changes in the volatile nitrogen bases ( Due to microbial growth) and TBA (Because tissue damages) has increased .

Sensory and microbiological analysis results showed that the shelf life of silver carp in ice for surimi production is suitable for 8 days.

**Keywords:** Surimi, Silver carp, Ice storage, Quality change, Shelf life.

# Contents

|                                                                                                                                                                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Investigation on the effects of different amounts of gellatin and guar on texture, organoleptic and color properties of white mulberry pastille</b>                                                                  | 13  |
| Sh. Basiri , F. Shahidi                                                                                                                                                                                                 |     |
| <b>The optimization of the production of anti-oxidative peptides from enzymatic hydrolysis of Pumpkin seed protein</b>                                                                                                  | 26  |
| E. Nourmohammadi, A.R. Sadeghimahoonak, M. Ghorbani, M. Alami and M. Sadeghi                                                                                                                                            |     |
| <b>Optimizing the operating parameters of cooker during oil extraction and production of sunflower meal on an industrial scale</b>                                                                                      | 37  |
| H. Bakhshabadi, M. Rostami, M. Moghimi, A. Bojmehrani, A.B. Bahalkeh, N. Toorani                                                                                                                                        |     |
| <b>Evaluation the physicochemical and mechanical properties of bittervetch seed (<i>Viciaervilia</i>) and the functional properties of its flour</b>                                                                    | 52  |
| M. Taghizadeh, B. Shokrollahi, F.Hamed                                                                                                                                                                                  |     |
| <b>Computational estimation of Lab units from RGB using machine vision</b>                                                                                                                                              | 64  |
| S. Abdanan Mehdizadeh, S. Amraee                                                                                                                                                                                        |     |
| <b>The effect of basil seed gum and xanthan on the physical and rheological characteristics of low fat mayonnaise</b>                                                                                                   | 78  |
| S. Shamsaee, S. M. A. Razavi, B. Emadzadeh, E. Ataei Salehi                                                                                                                                                             |     |
| <b>Structural and functional properties of three genotypes of common bean proteins (<i>Phaseolus vulgaris</i>)</b>                                                                                                      | 91  |
| N. F. Rahmati, A. Koocheki, M. Varidi, R. Kadkhodae                                                                                                                                                                     |     |
| <b>Mechanical study for texture degradation of potato strip during frying process</b>                                                                                                                                   | 104 |
| H. Sabbaghi, A. M. Ziaifar, M.Kashaninejad                                                                                                                                                                              |     |
| <b>Simultaneous detection of foodborn pathogenes <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Escherichia coli</i> O7:H7 and <i>Salmonella</i> spp. By Multiplex PCR in ready-to-eat vegetables</b>                                | 116 |
| S. Rajabzadeh <sup>1</sup> , M. Bahreini <sup>2</sup> , M. R. Sharifmoghadam                                                                                                                                            |     |
| <b>Study on the effect of the concentration of organically modified nanoclay on the microstructure and physical (mechanically, WVP and color) properties of Poly Ethylene Terephthalate (PET)- based nanocomposites</b> | 128 |
| N. Dardmeh, A. Khosrowshahi, H. Almasi. M. Zandi                                                                                                                                                                        |     |
| <b>Numerical Study of Starch Concentration and Filling Initial Temperature on Cold Area changes in Canned Starch-based Food</b>                                                                                         | 140 |
| A. Ranjbar Nedamani , A. M. Ziaifar, M. Parvini, M. Kashaninejad, Y. Maghsoudlou                                                                                                                                        |     |
| <b>Evaluation the effect of dominant <i>Lactobacillus</i> starter isolated from traditional sourdough on staling of cup bread produced with whole wheat flour</b>                                                       | 154 |
| A. Abedfar, A. Sadeghi, M.Kashaninejad, M. Khomeiri, M. Alami                                                                                                                                                           |     |
| <b>Postharvest application of calcium carbonate nanoparticles on enzyme activity and some attributes quality in fresh cut apples varieties Golden Delicious</b>                                                         | 166 |
| M. R. Asghari, R. Jami, A. R. Farokhzad                                                                                                                                                                                 |     |
| <b>Extraction of crude extract from <i>Malva neglecta</i> leaves and evaluation of its free radical scavenging activities</b>                                                                                           | 179 |
| H. Jooyandeh, V. Samavati                                                                                                                                                                                               |     |
| <b>Functional and stability profile changes of soy proteins cross linked with dextran through natural Maillard reaction</b>                                                                                             | 190 |
| S. Boostani, M. Moosavi-nasab, M. Aminlari, M. Niakosari, Gh. R. Mesbahi                                                                                                                                                |     |

## Brief report

**Study the quality of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) Surimi during the ice storage.**

B. Shabanpour, M. Neirizi, Z. Noori Hashemabad

# Iranian Food Science and Technology Research Journal

**Vol. 13**

**No. 1**

**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](http://jm.um.ac.ir/index.php/food_tech/index)

This journal is indexed in ISC, SID, and MAGIRAN.



Vol.13

No.1

2017

# Iranian Food Science and Technology Research Journal



ISSN:1735-4161

## Contents

|                                                                                                                                                                                                                             |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Investigation on the effects of different amounts of gellatin and guar on texture, organoleptic and color properties of white mulberry pastille.....</b>                                                                 | <b>13</b>  |
| Sh. Basiri , F. Shahidi                                                                                                                                                                                                     |            |
| <b>The optimization of the production of anti-oxidative peptides from enzymatic hydrolysis of Pumpkin seed protein .....</b>                                                                                                | <b>26</b>  |
| E. Nourmohammadi, A.R. Sadeghimahoonak, M. Ghorbani, M. Alami and M. Sadeghi                                                                                                                                                |            |
| <b>Optimizing the operating parameters of cooker during oil extraction and production of sunflower meal on an industrial scale .....</b>                                                                                    | <b>37</b>  |
| H. Bakhshabadi, M. Rostami, M. Moghimi, A. Bojmehrani, A.B. Bahalkeh, N. Toorani                                                                                                                                            |            |
| <b>Evaluation the physicochemical and mechanical properties of bittervetch seed (<i>Viciaervilia</i>) and the functional properties of its flour.....</b>                                                                   | <b>52</b>  |
| M. Taghizadeh, B. Shokrollahi, F.Hamed                                                                                                                                                                                      |            |
| <b>Computational estimation of Lab units from RGB using machine vision .....</b>                                                                                                                                            | <b>64</b>  |
| S. Abdanan Mehdizadeh, S. Amraee                                                                                                                                                                                            |            |
| <b>The effect of basil seed gum and xanthan on the physical and rheological characteristics of low fat mayonnaise.....</b>                                                                                                  | <b>78</b>  |
| S. Shamsae, S. M. A. Razavi, B. Emadzadeh, E. Ataei Salehi                                                                                                                                                                  |            |
| <b>Structural and functional properties of three genotypes of common bean proteins (<i>Phaseolus vulgaris</i>) .....</b>                                                                                                    | <b>91</b>  |
| N. F. Rahmati, A. Koocheki, M. Varidi, R. Kadkhodae                                                                                                                                                                         |            |
| <b>Mechanical study for texture degradation of potato strip during frying process .....</b>                                                                                                                                 | <b>104</b> |
| H. Sabbaghi, A. M. Ziaifar, M.Kashaninejad                                                                                                                                                                                  |            |
| <b>Simultaneous detection of foodborn pathogenes <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Escherichia coli</i> O7:H7 and <i>Salmonella</i> spp. By Multiplex PCR in ready-to-eat vegetables.....</b>                               | <b>116</b> |
| S. Rajabzadeh <sup>1</sup> , M. Bahreini <sup>2</sup> , M. R. Sharifmoghdam                                                                                                                                                 |            |
| <b>Study on the effect of the concentration of organically modified nanoclay on the microstructure and physical (mechanically, WVP and color) properties of Poly Ethylene Terephthalate (PET)-based nanocomposites.....</b> | <b>128</b> |
| N. Dardmeh, A. Khosrowshahi, H. Almasi. M. Zandi                                                                                                                                                                            |            |
| <b>Numerical Study of Starch Concentration and Filling Initial Temperature on Cold Area changes in Canned Starch-based Food.....</b>                                                                                        | <b>140</b> |
| A. Ranjbar Nedamani , A. M. Ziaifar, M. Parvini, M. Kashaninejad, Y. Maghsoudlou                                                                                                                                            |            |
| <b>Continue Content in cover</b>                                                                                                                                                                                            |            |