نشریه علمی - پژوهشی

پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران

جلد۱۳ شماره ۴

سال ۱۳۹۶

شماره پیاپی ۴۳

شاپا: ۱۷۳۵-۴۱۶۱

عنوان مقالات

تأثیر افزودن شیرخشک بر ویژگی‌های کیفی کیک یزدی ۴۳۶
سیده معصومه پورسید- علی معتمدزادگان- جعفر محمدزاده میلانی

اثر نانوفیبر سلولز و کربوکسی‌متیل سلولز بر ویژگی‌های رئولوژیکی و اندازه ذرات مایونز کم‌چربی ۴۴۶
لاله گلچوبی- مزدک علیمی- حسین یوسفی

تاثیرجایگزینی فیبر پرتقال با روغن و تخم مرغ بر خصوصیات فیزیکو شیمیایی و ارگانولپتیک مافین ۴۵۸
زهرا نجفی- سارا موحد- حسین احمدی چناربن

تأثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی بر ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی، بافتی و ارگانولپتیکی بستنی نیم‌چرب ۴۶۹
عرفان دانش- حسین جوینده- مصطفی گودرزی

تاثیر متابی‌سولفیت سدیم و پیش تیمار اسمزی بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی برش لیموترش شیرازی خشک شده تحت خلاء ۴۸۰
آیسان فلکی- نارملا آصفی

بهینه‌یابی بازیافت نیتروژنی در آبکافت آنزیمی پروتئین سر و بازوی ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) با استفاده از آنزیم آلکالاز ۴۹۱
کیوان علی عسگری- سکینه یگانه- سید علی جعفرپور- رضا صفری

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های پوست و پالپ انجیر در پایداری اکسایشی روغن کانولا به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان سنتزی ۵۰۳
الهه مقصودلو- رضا اسماعیل‌زاده کناری- زینب رفتنی امیری

اثر حلال‌های مختلف و امواج فراصوت بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه زغال اخته ۵۱۷
فروغ گیلانی- زینب رفتنی امیری- رضا اسماعیل‌زاده کناری

ارزیابی تاثیر زمان رسانیدن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و بافتی بستنی گیاهی بر پایه شیر سویا و شیر کنجد ۵۲۸
سجاد قادری- مصطفی مظاهری طهرانی- سید محمد علی رضوی

ارزیابی خصوصیات حسی و بافتی مغز بادام‌زمینی برشته شده با روش رگرسیون حداقل مربعات جزئی ۵۴۰
هادی باقری- مهدی کاشانی نژاد- مهران اعلمی- امان محمد ضیائی‌فر

ارزیابی خصوصیات ریزکپسول‌های چند لایه حاوی دی استیل بر پایه جذب الکترواستاتیک فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا و پکتین ۵۵۳
الهام انصاری‌فر- فخری شهیدی- محبت محبی- آرش کوچکی- نوید رمضانیان

ادامه فهرست داخل جلد

نشریه علمی- پژوهشی پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران جلد۱۳ شماره ۴ سال ۱۳۹۶ 2017 Vol.13 No.4

Iranian Food Science and Technology Research Journal

نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران

با شماره پروانه 124/847 و درجه علمی – پژوهشی شماره 3/11/810 / 88/5/10 از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

جلد 13 شماره 4 مهر - آبان 1396

درجه علمی - پژوهشی این نشریه طی نامه 3/11/47673 / 90/4/14 از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری تا سال 1393 تمدید شده است.

صاحب امتیاز: گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر هاشم پورآذرنگ — استاد، شیمی مواد غذایی (دانشگاه فردوسی مشهد)

سردبیر: دکتر سید محمد علی رضوی — استاد، مهندسی وخواص 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 وبیوتکنولوژی، 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: 250 نسخه **قیمت:** 5000 ریال (دانشجویان 2500 ریال)

نشانی: مشهد - کد پستی 91775 صندوق پستی 1163

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

تلفن: 20-8795618 داخلی 321 نمابر: 8787430

این نشریه درپایگاههای زیر نمایه شده است:

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

پست الکترونیکی: ifstrj@um.ac.ir

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

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

تأثیر افزودن شیرخشک بر ویژگی‌های کیفی کیک یزدی 436
سیده معصومه پورسید - علی معتمدزادگان - جعفر محمدزاده میلانی

اثر نانوفیبر سلولز و کربوکسی‌متیل سلولز بر ویژگی‌های رئولوژیکی و اندازه ذرات مایونز کم‌چربی 446
لاله گلچوبی - مزدک علیمی - حسین یوسفی

تاثیرجایگزینی فیبر پرتقال با روغن و تخم مرغ بر خصوصیات فیزیکو شیمیایی و ارگانولپتیک مافین 458
زهرا نجفی - سارا موحد - حسین احمدی چناربن

تأثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی بر ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی، بافتی و ارگانولپتیکی بستنی نیم‌چرب 469
عرفان دانش - حسین جوینده - مصطفی گودرزی

تاثیر متابی‌سولفیت سدیم و پیش تیمار اسمزی بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی برش لیموترش شیرازی خشک شده تحت خلاء 480
آیسان فلکی - نارملا آصفی

بهینه‌یابی بازیافت نیتروژنی در آبکافت آنزیمی پروتئین سر و بازوی ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) با استفاده از آنزیم آلکالاز 491
کیوان علی عسگری - سکینه یگانه - سید علی جعفرپور - رضا صفری

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های پوست و پالپ انجیر در پایداری اکسایشی روغن کانولا به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان سنتزی 53
الهه مقصودلو - رضا اسماعیل‌زاده کناری - زینب رفتنی امیری

اثر حلال‌های مختلف و امواج فراصوت بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه زغال اخته 517
فروغ گیلانی - زینب رفتنی امیری - رضا اسماعیل‌زاده کناری

ارزیابی تاثیر زمان رسانیدن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و بافتی بستنی گیاهی بر پایه شیر سویا و شیر کنجد 528
سجاد قادری - مصطفی مظاهری طهرانی - سید محمد علی رضوی

ارزیابی خصوصیات حسی و بافتی مغز بادام‌زمینی برشته شده با روش رگرسیون حداقل مربعات جزئی 540
هادی باقری - مهدی کاشانی نژاد - مهران اعلمی - امان محمد ضیائی‌فر

ارزیابی خصوصیات ریزکپسول‌های چند لایه حاوی دی استیل بر پایه جذب الکترواستاتیک فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا و پکتین 553
الهام انصاری‌فر - فخری شهیدی - محبت محبی - آرش کوچکی - نوید رمضانیان

بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره آویشن شیرازی و تیمول بر ماندگاری قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) 566
مینو رستگار - سید اسماعیل رضوی - پونه ابراهیمی

تاثیر صمغ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز بر خواص کیفی نان باگت بدون گلوتن بر پایه مخلوط مساوی آرد ذرت و آرد سیب‌زمینی 575
سارا موحد - الهام کاکایی - حسین احمدی چناربن

ارزیابی خواص فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم خوراکی کیتوزان حاوی اسانس صمغ بنه 584
وحید علی‌زاده - حسن برزگر - بهزاد ناصحی - وحید سمواتی

بهینه سازی شرایط استخراج پکتین به کمک امواج اولتراسونیک از تفاله شاه توت (*Morus nigra L.*) 594
وحید مسیبی - زهرا امام جمعه

ارزیابی خصوصیات کاربردی فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی نشاسته حاوی مونت‌موریلونیت و تیتانیوم‌دی‌اکسید 611
سیّد امیر اولیایی ُ - بابک قنبرزاده - علی‌اکبر مؤیدی - پریسا پورثانی - سیده فاطمه موسوی بایگی - محمّدرضا بخش‌امین

بررسی اثر فرایند فراصوت دمایی بر خصوصیات کیفی عصاره زرشک بی‌دانه (*Berberis vulgaris*) 627
محمد فرهادی چیتگر - مهران اعلمی - الناز میلانی - یحیی مقصودلو

مقاله کوتاه پژوهشی 637

بررسی تاثیر جایگزینی ساکارز با شیره خرما بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی نوشیدنی مالت
فرناز حاجی‌اقراری - عزیز همایونی‌راد - زینب رحیم‌زاده ثانی

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 436-445

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 445-436

تأثیر افزودن شیرخشک بر ویژگی‌های کیفی کیک یزدی

سیده معصومه پورسید[1]- علی معتمدزادگان*[2]- جعفر محمدزاده میلانی[2]

تاریخ دریافت: 1394/07/05
تاریخ پذیرش: 1394/12/08

چکیده

پودر شیر پس‌چرخ به‌علت داشتن خواص عملکردی مناسبی نظیر امولسیون‌کنندگی، جذب آب، ایجاد ویسکوزیته و ژل‌دهی به‌عنوان یک ترکیب ارزشمند در فراورده‌های پختی که نیاز به بافت مناسب و رطوبت مطلوب دارند، مورداستفاده قرار می‌گیرد. هدف از این پژوهش بهبود خواص بیاتی و کیفی کیک روغنی (یزدی) و خمیر آن با افزودن شیرخشک پس‌چرخ در دو سطح 25 و 50 درصد بوده است. ویژگی‌های خمیر شامل حجم مخصوص و قوام خمیر و ویژگی‌های کیک شامل حجم مخصوص، اندیس‌های حجم، تقارن و یکنواختی، نسبت پوسته به مغز، آون اسپرینگ، تخلخل و بافت در ساعات اولیه پخت اندازه‌گیری شدند. نتایج بدست آمده نشان داد که با افزایش پودر شیر پس‌چرخ تمامی ویژگی‌های خمیر و کیک بهبود یافتند به‌طوری که در تیمار 50% بیشترین قوام خمیر (8/73 گرم بر ثانیه)، حجم مخصوص کیک، آون اسپرینگ (3/3 سانتی‌متر)، اندیس‌های حجم، تقارن و یکنواختی و نسبت پوسته به مغز (0/22) وکمترین حجم مخصوص خمیر و بهترین حالت بافت یعنی کمترین سفتی (109 گرم)، چسبندگی، صمغیت (1017 گرم) و قابلیت جویدن (71/48 میلی‌ژول) و بیشترین انسجام، برگشت‌پذیری، فنریت(7/26 میلی‌متر) و تردی بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: خصوصیات فیزیکوشیمیایی، پودر شیر پس‌چرخ، خمیر، کیک یزدی، تخلخل، بافت

مقدمه

کیک نوعی شیرینی و غذایی مخصوص است که استفاده از آن از قرن‌ها پیش معمول بوده است. کیک با شکل و مزه متفاوت ساخته می‌شود و به‌وسیله همه افراد جامعه در هر فصل و زمان قابل مصرف است. ازآنجاکه تغییر و دست‌کاری در مواد اولیه کیک جهت بهبود کیفیت و افزایش زمان ماندگاری محصول، ابزاری نیرومند در دستان تولیدکنندگان است، تاکنون مطالعات بسیاری درزمینه اصلاح و تغییر ترکیبات تشکیل‌دهنده انواع کیک صورت گرفته است (Bolgelan & Dendy, 2001)

مقدار آب شیرخشک بین 2/5 تا 5 % است و هیچ باکتری در این مقدار آب رشد نمی‌کند. خشک کردن سبب افزایش ماندگاری شده و به طور همزمان از جرم و حجم می‌کاهد که خود سبب کاهش هزینه-های حمل‌ونقل و نگهداری می‌شود (سینگ، 2007). شیر تازه یا شیر تغلیظ شده که حرارت کافی ندیده‌اند نمی‌توانند کیفیت پخت فراورده‌های غلات را به‌خوبی بالا ببرند. دلایلی برای شرح این مورد ذکر شدند که عبارتند از تخریب آنزیم‌های پروتئولیتیک توسط گرما، دناتوراسیون و انعقاد پروتئین، تغییرات در خواص کلوئیدی نمک‌ها، و تغییرات در سیستم‌های اکسیداسیون و احیا (ری، 1950). شیر خام به‌ندرت در فراورده‌های نانوایی استفاده می‌شود. استفاده از شیرخشک به دلایلی نظیر سهولت جابه‌جایی، حمل‌ونقل و فراوری در فرمولاسیون‌های مواد غذایی ارجحیت دارد. پودر شیر به‌طور عمده از لاکتوز، چربی و پروتئین تشکیل‌شده است. شیر یا فراورده‌های آن برای دو هدف عمده در محصولات نانوایی و قنادی استفاده می‌شوند. یکی از این اهداف افزایش ارزش غذایی می‌باشد. آمینواسیدهای غلات توسط آمینواسیدهای شیر تکمیل می‌شوند چراکه غلات ازنظر لیزین و تریپتوفان دارای محدودیت می‌باشند درحالی‌که شیر غنی از این دو اسیدآمینه است. طبق گزارشات (Pedraja, 1965) ارزش غذایی شیر پس چرخ از ارزش غذایی تخم‌مرغ کامل بیشتر است. از مهم‌ترین خواص عملکردی شیر پس‌چرخ در محصولات نانوایی و قنادی می‌توان به افزایش جذب آب، خاصیت بافری، واکنش‌های مربوط به رنگ لاکتوز، خاصیت تردکنندگی، بهبود بافت و خاصیت ارتجاعی پوسته اشاره نمود (کرک،1971.Pyler (1973) شیر پس‌چرخ را به نان افزود و دریافت که شیر پس‌چرخ بر مدت‌زمان مخلوط کردن، سرعت تخمیر و نیاز به برومات تأثیر می‌گذارد. این محقق همچنین گزارش نمود که شیر پس‌چرخ به‌طور عمده ساختار کیک و زمان بیاتی آن را تغییر می‌دهد و به‌طور مستقیم و غیرمستقیم

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، آموزش عالی تجن، قائمشهر، مازندران.
2- دانشیار ، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران.
(* - نویسنده مسئول: Email: amotgan@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.50177

از طریق واکنش‌های قهوه‌ای شدن پوسته بر رنگ و طعم کیک مؤثر است. Rea (1950) افزودن 6% شیر خشک نسبت به وزن آرد را به‌عنوان علت افزایش حجم و بهبود ویژگی‌های قرص نان گزارش نمود. افزایش تحمل[1] تخمیر (مدت‌زمانی که خمیر بدون آسیب‌دیدگی تخمیر می‌شود) افزایش جذب آب و درنتیجه افزایش بازده تولید نان نیز در بررسی این محقق گزارش‌شده است. Rea (1950) بیان کرد که هرگونه تغییر که باعث کاهش دمای ژلاتینه و افزایش قوام خمیر شود (ازجمله پروتئین و چربی شیر) کیفیت نهایی کیک را افزایش می‌دهد. نمونه‌هایی از مصارف لاکتوز در مواد غذایی مختلف در تحقیقات Nickson (۱۹۷۵) ازجمله ایجاد شیرینی نسبی، واکنش-های قهوه‌ای شدن، خواص پایدارکنندگی پروتئین، اصلاح الگوهای کریستالیزاسیون لاکتوز، افزایش عطروطعم و خواص تغذیه‌ای وجود دارد. لاکتوز موجود در شیرخشک بدون ایجاد طعم شیرینی زیاد، به افزایش ویسکوزیته و احساس دهانی کمک می‌کند و همچنین به دلیل افزایش ماده جامد سبب بهبود بافت نیز می‌گردد. ایوبی و همکاران (1390) در بررسی اثر سطوح مختلف کنسانتره پروتئین آب پنیر(WPC) بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی کیک روغنی با آنالیز داده‌ها دریافتند که سطوح مختلف جایگزینی WPC کلیه خصوصیات را تحت تاثیر قرار داد، به‌طوری که با افزایش نسبت جایگزینی مقادیر سفتی بعد از 1، 2 و 10 روز نگهداری نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. این امر به دلیل وجود لاکتوز و سایر املاح موجود درشیرمی‌باشد (ایوبی و همکاران 1390)

در این پژوهش کاربرد پودر شیرخشک پس چرخ در فرمولاسیون کیک روغنی (یزدی) با هدف بهبود خصوصیات کیفی کیک و خمیر آن مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

آرد مخصوص تولید کیک (آرد ستاره)، شکر، روغن نباتی جامد، بیکینگ‌پودر و جوش‌شیرین از فروشگاه‌های سطح شهر قائم‌شهر تهیه شدند و تخم‌مرغ تازه نیز یک روز قبل از تولید روزانه کیک ها تهیه و در یخچال نگهداری شد. تمامی خمیرهای کیک طوری تهیه شدند که نسبت به آرد حاوی 30% روغن، 46% شکر، 50% آب، 11/7% تخم‌مرغ، 4% بیکینگ‌پودر و 1% جوش‌شیرین باشند. به‌منظور بهبود عطر و طعم به مقدار معین وانیل در تمام فرمولاسیون‌ها به خمیر افزوده شد. شیر خشک صنعتی با 1/5 درصد چربی و رطوبت 3-4% نیز از کارخانه پگاه خراسان خریداری گردید. شیر خشک پس‌چرخ، بر اساس مطالعات انجام شده در سطوح 25 و 50 درصد به خمیر اضافه شد. خمیر کیک به روش مخلوط کردن دو مرحله‌ای تهیه و در قالب های مناسب ریخته و در فر با دمای 180 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه پخت شدند. نمونه‌ها برای انجام آزمایش‌های مربوطه در بسته‌های وکیوم و در دمای محیط نگهداری گردیدند. (ایوبی و همکاران، 1390)

حجم مخصوص و قوام خمیر

حجم مخصوص خمیر کیک با استفاده از روش محاسبه نسبت وزن مشخصی از خمیر کیک به همان وزن آب اندازه‌گیری شد (Lin, 2003). اندازه‌گیری قوام خمیر کیک بر اساس روش پیرس و همکاران (1987) انجام گردید. (پورصفر و همکاران، 1389)

حجم مخصوص کیک

برای اندازه‌گیری حجم مخصوص کیک از روش جایگزینی حجم با دانه کلزا استفاده شد. برای این منظور در فاصله زمانی 2 ساعت پس از پخت قطعه‌ای به ابعاد 2×2 سانتی‌متر از مرکز هندسی کیک تهیه گردید و حجم مخصوص آن تعیین شد (Caballero, 2007).

آون اسپرینگ

اون اسپرینگ توسط افزایش ارتفاع خمیر پس از پخت تعیین شد. برای محاسبه این ویژگی از اختلاف ارتفاع خمیر در نمونه‌های علامت‌گذاری شده و کیک حاصل از آن‌ها بلافاصله پس از پخت استفاده شد (Shittu, 2008).

اندیس‌های حجم، تقارن و یکنواختی

اندیس‌های تقارن، حجم و یکنواختی کیک با استفاده از روش 10-91AACC(AACC1999) اندازه‌گیری شد.

نسبت پوسته به مغز

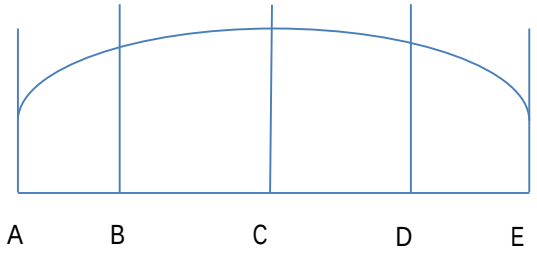
جهت محاسبه نسبت پوسته به مغز، پوسته توسط یک عدد چاقوی تیز از مغز جدا گردید. تشخیص بین پوسته و مغز کاملاً فردی است و محاسبات از یک شخص به شخص دیگر می‌تواند متفاوت باشد. در این آزمون، پوسته به‌عنوان بخش رنگی و خشک، که در قسمت خارجی کیک قرارگرفته، در نظر گرفته‌شده است و پس از جداسازی، پوسته و مغز هریک به‌طور دقیق توزین گشته و نسبت آن‌ها اندازه‌گیری شد (Suric, 2008).

آزمون بافت

جهت سنجش سفتی بافت با اصلاح روش پیشنهادی Setser و Hess(۱۹۸۳) از دستگاه Texture Analyzer مدل CT3 ساخت امریکا با نرم‌افزار Texture Pro CTV1.6 Build 26 با پروب از جنس Clear Acrylic و قطر 38/1 میلی‌متر و طول 20 میلی‌متر

1 Tolerance

برای انجام آزمون بافت استفاده گردید.



شکل 1- الگوی نقاط A ,B ,C ,D ,E
اندیس حجم: B+ C+ D
اندیس تقارن: 2C– B- D
اندیس یکنواختی: B– D

تخلخل

در این روش ابتدا سطح مقطع کیک به‌صورت عرضی حدود 2 ساعت پس از پخت با تیغ تیز برش داده‌شده و با استفاده از اسکنر HP (American Scanjet G2410) در رزولوشن300 dpi اسکن شدند .سپس این تصاویر توسط نرم‌افزارImage Pro Plus نسخه 4.5.0.29 که در قسمت تنظیمات آن روشنایی، مقیاس، اندازه‌گیری مساحت، فاصله نقاط و سایر فاکتورهای مورد نیاز این پژوهش وجود دارد، آنالیز گردیدند. فاکتورهای مورد بررسی عبارت بودند از: مساحت کل سلول‌ها، تعداد کل سلول‌ها، قطر میانگین سلول‌ها، حداقل قطر سلول‌ها، حداکثر قطر سلول‌ها و مساحت متوسط هر سلول. (استلر، 2006)

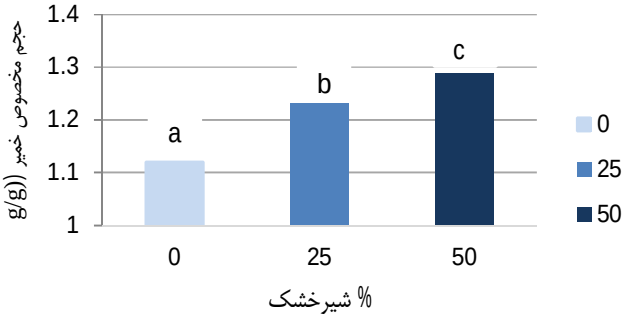
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری خواص کیفی تیمارها در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و به کمک نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین‌ها در سطح 1 درصد با آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

حجم مخصوص و قوام خمیر

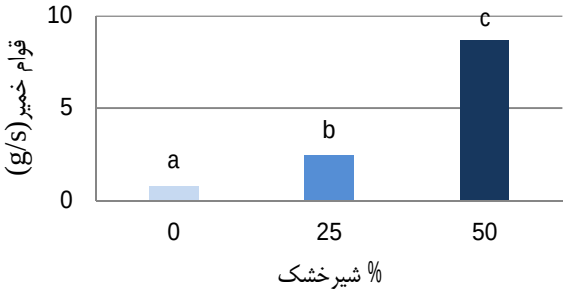
سطوح مختلف شیرخشک تفاوت معنی‌داری ($P<0.01$) را در حجم مخصوص خمیر ایجاد نمود (شکل 2). طبق نتایج Baeva و همکاران (2000) با توجه به رابطه معکوس میان وزن مخصوص خمیر کیک و قابلیت ورود حباب‌های هوا به خمیر و نیز میزان نگهداری حباب‌های هوا در بافت خمیر کیک می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش درصد شیرخشک حجم مخصوص کاهش می‌یابد و همان‌طور که در شکل 2 مشاهده می‌شود تیمار 50% دارای کمترین حجم مخصوص و در نتیجه بالاترین حجم کیک می‌باشد.



شکل 2- اثر سطوح مختلف شیرخشک (٪) بر حجم مخصوص خمیر

در پژوهش‌های دیگر Ofelt و همکاران (1940) در قرص نان و همچنین Berry و همکاران (2009) در کیک اسفنجی نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. اثر سطوح مختلف شیرخشک بر قوام خمیر معنی‌دار بود. با افزایش مقدار شیرخشک قوام خمیر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0.01$)، به‌طوری که خمیر حاوی 50% شیرخشک دارای بالاترین قوام بود چراکه با افزودن مقدار شیرخشک، مقدار ماده جامد خمیر افزایش می‌یابد و خمیر با ویسکوزیته بالاتر و در نتیجه قوام بیشتر به‌دست می‌آید. همچنین به‌نظر می‌رسد که وجود قند احیاکننده لاکتوز و وجود لاکتالبومین در شیرخشک که از خواص تشکیل ژل خوبی برخوردار می‌باشد از دلایل عمده این مسئله می‌باشد. تحقیق Kaur و همکارانش (2005) نیز نشان داد که با افزایش غلظت WPC در خمیر کیک مافین نیز به دلایل وجود لاکتوز و لاکتالبومین قوام خمیر افزایش یافت. قوام خمیر کیک تعیین‌کننده سرعت بالا آمدن حباب‌های هوا به‌سمت سطح کیک است. در خمیرهای با قوام کمتر سرعت حرکت حباب‌های هوا به سمت سطح

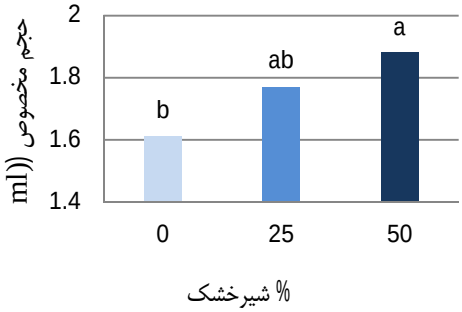
کیک بالاتر است، بنابراین بهتر است قوام خمیر کیک درحد کافی بالا در نظر گرفته شود تا ضمن حفظ قابلیت پمپ شدن و قالب‌ریزی خمیر حباب‌های هوای بیشتری طی فاز مکانیکی مخلوط کردن یا هوادهی مکانیکی در خمیر حفظ شود (شکل 3).



شکل 3- اثر سطوح مختلف شیرخشک بر قوام خمیر

حجم مخصوص کیک

حجم مخصوص کیک با افزایش سطوح شیرخشک به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده ($P<0.01$) و تیمار حاوی 50% شیرخشک بالاترین حجم مخصوص را ایجاد نموده است. این درحالی است که نمونه شاهد کمترین حجم مخصوص را نشان داد. نتیجه تحقیق سوارن و همکاران (2003) نیز مشابه بوده و نشان داد که با افزایش نسبت جایگزینی کنسانتره پروتئین آب‌پنیر که دارای پروتئین‌ها و لاکتوز مشابه شیر می‌باشد، حجم کیک به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل 4).

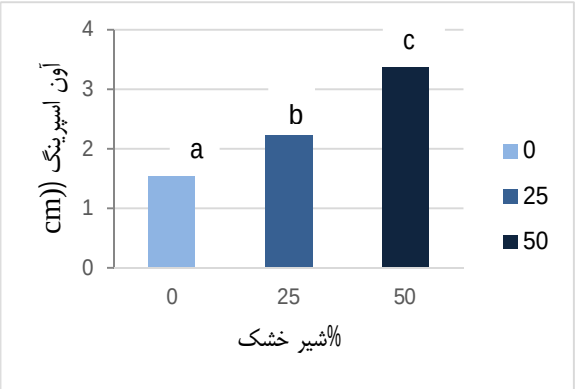


شکل 4- اثر سطوح مختلف شیرخشک (٪) بر حجم مخصوص کیک (ml)

آون اسپرینگ

آون اسپرینگ افزایش حجم محصول طی اولین دقایق پخت می‌باشد که هرچه بیشتر باشد، نشان‌دهنده مقاومت خمیر برای حفظ گاز دی‌اکسیدکربن است (لشکری و همکاران، 1391). اختلاف ارتفاع کیک قبل و بعد از پخت با افزایش درصد شیرخشک تفاوت معنی‌داری ($P<0.01$) را ایجاد نمود، به‌طوری‌که تیمار حاوی 50% شیرخشک دارای بیشترین ارتفاع پس از پخت بود. افزایش هوای محبوس، تقویت شبکه گلوتنی جهت حفظ و نگهداری گاز و درنتیجه افزایش حجم محصول از خواص عملکردی شیر می‌باشد. بری و همکاران (2009)، نیز به نتیجه‌ای مشابه در کیک اسفنجی دست یافتند (شکل 5 و 6).

شکل 5- اثر سطوح مختلف شیر خشک بر حجم کیک، به‌ترتیب از راست به چپ 0%، 50% و 25%



شکل 6- اثر سطوح مختلف شیرخشک بر اون آسپرینگ

اندیس حجم، تقارن و یکنواختی

نقش میزان تأثیر سطوح مختلف شیرخشک بر اندیس‌های حجم، تقارن و یکنواختی معنی‌دار ($P<0.01$) بود. کیک‌های تهیه‌شده از خمیر حاوی 50% شیرخشک به‌طور میانگین بیشترین حجم را داشتند که این امر را می‌توان به افزایش نگهداری گاز به دلیل وجود پروتئین و چربی شیر نسبت داد. همچنین پخش و پراکندگی ذرات ظریف چربی در شیر روی گلوتن اثر می‌گذارد و باعث ژلاتیناسیون بیشتر نشاسته و درنتیجه موجب شکل‌پذیری بهتر در فر می‌شود (پورصفر و همکاران، 1389). تقارن و یکنواختی نیز درسطح 25% کمترین مقدار را دارا می‌باشد ولی در نمونه شاهد و تیمار 50% تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. افلت و همکاران (1940) اظهار داشتند که افزودن 6%

شیر خشک نسبت به وزن آرد سبب افزایش حجم و بهبود ویژگی‌های قرص نان می‌شود. همچنین بری و همکاران (2009) به نتیجه‌ای مشابه این پژوهش رسیده و دریافتند در خمیر کیکی که از پروتئین آب‌پنیر تشکیل شده است دائماً حباب‌ها در حال رشد هستند و ساختار کیک را درشت می‌کنند. تقارن، حجم و یکنواختی بهتر کیک‌ها احتمالاً به افزایش قوام خمیر این کیک‌ها مرتبط می‌باشد که بهتر می‌توانند حباب‌های هوا در جریان مخلوط کردن مکانیکی خمیر را در خود نگه‌داشته و این حباب‌ها می‌توانند به‌عنوان هسته‌های اولیه جهت توزیع گاز حاصل از مواد شیمیایی پوک‌کننده عمل نمایند. توزیع یکنواخت حباب‌های هوا منجر به بهبود تقارن، حجم و یکنواختی کیک می‌شود (پورصفر و همکاران، 1389) (جدول 1).

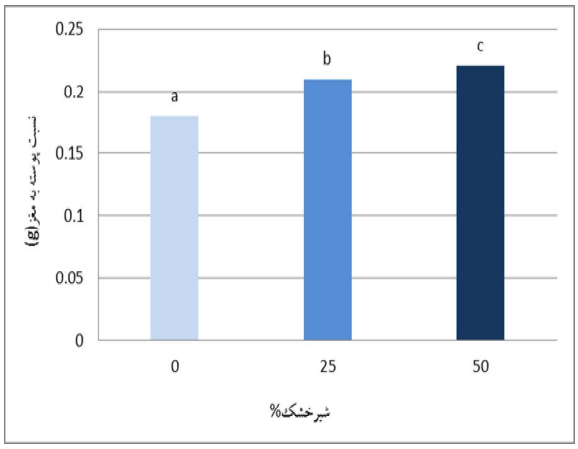
جدول 1- اثر سطوح مخلف شیر خشک بر اندیس حجم، تقارن و یکنواختی

درصد جایگزینی	اندیس حجم	اندیس تقارن	اندیس یکنواختی
شاهد (%0)	7/13c*	0/76a	0/1 a
%25	10/26b	0/43b	0/06b
%50	12/73a	0/76a	0/1a

*در هر ستون حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد

نسبت پوسته به مغز

در این پژوهش نسبت پوسته به مغز در تیمارها و نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P<0.01$). به‌طوری‌که با افزودن مقدار شیرخشک میزان پوسته افزایش یافت. دلیل این امر را می‌توان افزایش میزان لاکتوز و گسترش واکنش‌های قهوه‌ای شدن دانست. پورمحمدی وهمکاران (1388)، در مورد نان دریافتند که هرچه نسبت مغز به پوسته بالاتر باشد، کیفیت محصول حاصل بهتر خواهد بود. ناصحی و همکاران (1384)، نیز به این نتیجه رسیدند که نمونه‌ای مناسب است که نسبت پوسته به مغز کمتری داشته باشد. بالا بودن میزان پوسته باعث می‌شود که تغییرات بافت کیک طی روند بیاتی بیشتر تحت تأثیر خروج رطوبت باشد (شکل 7).



شکل 7- اثر سطوح مختلف شیرخشک بر نسبت پوسته به مغز

آزمون بافت

این آزمون برای اندازه‌گیری برخی خصوصیات کیک یزدی ازجمله انسجام و پیوستگی[1]، قابلیت جویدن[2]، حالت صمغی[3]، حالت ارتجاعی[4]، نیروی چسبندگی[5]، حالت فنری[6]، سختی[7] و... می‌باشد. افزودن شیرخشک در اکثر فاکتورهای نام‌برده تفاوت معنی‌داری را ایجاد نمود. با افزایش سطح شیرخشک در فرمولاسیون کیک یزدی فاکتورهای نیروی چسبندگی، قابلیت جویدن، حالت صمغی و سختی کاهش ($P<0.01$)، فاکتورهای حالت ارتجاعی و انسجام و پیوستگی افزایش ($P<0.01$) و حالت فنری بدون تغییر باقی ماندند. دلایل این تغییرات را می‌توان به میزان پروتئین‌ها و لاکتوز در شیر و همچنین ایجاد حباب‌های ریزتر و بافتی لطیف‌تر در کیک به علت وجود چربی شیر، پخش و پراکندگی ذرات ظریف چربی و ایجاد حفرات گازی بیشتر و منسجم‌تر نسبت داد، این نمونه‌های حجیم‌تر دارای بافتی با حفرات غیریکنواخت و بعضاً بزرگ می‌باشند که دیواره آن ها در مقابل نیروی واردشده از طرف پروب دستگاه تکسچر آنالایزر مقاومت چندانی از خود نشان نمی‌دهد و به‌راحتی تخریب می‌شود. لاکتوز و اجزای پروتئین سرم نیز ساختار پوسته را ترد می کنند. در نتایجی مشابه در کیک شیر هندی چاولاو همکاران (2014) دریافتند که نمونه‌های نگهداری شده فاقد شیر به تدریج حالت شکننده به خود گرفتند و انسجام خود را از دست دادند. Hoffstrand و همکاران (1965) نشان دادند که لاکتوز در دونات‌ها با افزایش محتوای ماده جامد، تردی را افزایش و قابلیت جویدن را کاهش می‌دهد. Sigsworth و همکاران

1 Cohesiveness
2 Chewiness
3 Gumminess
4 Resilience
5 Adhesiveness
6 Springiness
7 Hardness

(1976) گزارش کردند که حدود 75 تا 80% از پروتئین شیر را کازئین تشکیل می‌دهد که در ایجاد ساختار کیک و حالت ارتجاعی پوسته نقش دارد. در پژوهشی دیگر که بر مافین آرد برنج حاوی کلسیم و لاکتوز انجام گردید. Kim و همکاران (2014) به نتیجه‌ی مشابهی رسیدند، آن‌ها دریافتند که افزایش حالت ارتجاعی، انسجام و انعطاف‌پذیری می‌تواند منعکس کننده افزایش حجم مخصوص و هوادهی بهتر باشد. مشخص‌شده است که حالت ارتجاعی بالا نشان از تازگی، هوادهی و حالت الاستیک مناسب محصول دارد. نتیجه تحقیق Arunepanlop و همکاران (۱۹۹۶)، نیز مشابه نتایج حاصل از این پژوهش بود و نشان داد که با افزایش سطح WPI به‌علت وجود لاکتوز، سفتی کیک آنژل کاهش یافت (جدول 2).

جدول 2- اثر سطوح مختلف شیر خشک بر بافت کیک

عامل متغیر	0(شاهد)	25%	50%
Cohesiveness	$0/56^{c*}$	$0/62^{b}$	$0/7^{a}$
Chewiness	$92/64^{a}$	$78/28^{b}$	$71/48^{c}$
Gumminess	1265^{a}	$1120/55^{b}$	$1017/66^{c}$
Resilience	$0/28^{c}$	$0/33^{b}$	$0/36^{a}$
Adhesiveness	$0/16^{a}$	$0/01^{b}$	0^{b}
Springiness	$7/50^{a}$	$7/31^{a}$	$7/26^{a}$
Hardness	$485/22^{a}$	$298/22^{b}$	$109/11^{c}$

*در هر سطر حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

تخلخل

تخلخل و یکنواختی و اندازه سلول‌ها از عوامل مهم در تعیین کیفیت بافت مغز فراورده‌های غلات هستند. با استفاده از آنالیز توسط اسکنر مسطح می‌توان اطلاعاتی درزمینه ریزساختار آن‌ها بدست آورد (استلر، 2006). با توجه به نتایج حاصل از افزودن سطوح مختلف شیرخشک به کیک مشاهده شد که با افزایش درصد شیرخشک تعداد سلول‌های ایجاد شده، مجموع مساحت سلول‌ها و مساحت متوسط هر سلول افزایش و قطر مینیمم کاهش ($P<0.01$) می‌یابد. درمورد قطر میانگین و قطر ماکزیمم سلول‌ها تیمار 25% و نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری را ایجاد نکردند درحالی‌که تیمار 50% در هر دو مورد افزایش یافت. درنتیجه تیمار 50% با داشتن بالاترین مساحت کل، بالاترین قطر ماکزیمم و پایین‌ترین قطر مینیمم بزرگ‌ترین منافذ و بافتی با ساختار گسترده‌تر را دارا می‌باشد. دلیل این امر را می‌توان به پروتئین‌ها و لاکتوز موجود در شیر نسبت داد. لاکتوز سبب افزایش پایداری حرارتی پروتئین‌ها شده و پروتئین‌ها در دمای بالاتری دناتوره می‌شوند، به همین دلیل امکان انبساط بیشتر گاز داخل حفرات ساختمان کیک در حین پخت فراهم شده و حفرات بزرگ‌تری در محصول ایجاد می‌شود، درنتیجه با افزایش سطح شیرخشک حجم نمونه‌های کیک افزایش می‌یابد. این نمونه‌های حجیم‌تر دارای بافتی با حفرات غیریکنواخت و بعضاً بزرگ می‌باشند (پانلوپ، 1996) (جدول 3).

جدول 3- اثر سطوح مختلف شیر خشک بر تخلخل کیک

متغیرهای اندازه‌گیری شده	شاهد (0%)	25%	50%
تعداد سلول‌ها	681^{b}	787^{a}	803^{a}
قطر میانگین سلول‌ها (mm)	$1/396^{b}$	$1/393^{b}$	$1/495^{a}$
قطر مینیمم سلول‌ها (mm)	$0/95^{a}$	$0/94^{a}$	$0/92^{a}$
قطر ماکزیمم سلول‌ها (mm)	$1/82^{b}$	$1/81^{b}$	$1/94^{a}$
مجموع مساحت سلول‌ها (mm^2)	$2521/6^{b}$	$4598/3^{a}$	5184^{a}
مساحت متوسط هر سلول	$3/46^{b}$	$5/78^{a}$	$6/49^{a}$

*در هر سطر حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزودن 25% شیرخشک پس چرخ به فرمولاسیون کیک یزدی تغییر معنی‌داری در تقارن و یکنواختی ایجاد نکرده است، نسبت پوسته به مغز کاهش یافته و سایر فاکتورها افزایش پیدا کرده است. با افزایش درصد شیرخشک به 50% تمامی فاکتورها به بهترین حالت خود می‌رسند به‌جز نسبت پوسته به مغز که در تیمار 25% کمترین مقدار را داشت. به‌طورکلی، با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان از شیرخشک پس چرخ در کیک یزدی جهت بهبود خواص بافتی و کیفی و همچنین بهبود خواص خمیر کیک یزدی به‌طور موفقیت‌آمیزی استفاده نمود.

منابع

Arunepanlop, B., Morr, civ; Karleskind, D; and Laye, I. 1996. Partial replacement of egg white proteins with whey in angel food cakes. *J Food Science* - 61 (5): 1085 – 1093.

Ayoubi, A., Habibi Najafi, M. B., Karimi, M. 2011. Effect of different levels of whey protein concentrate on the physicochemical and sensory properties of muffin cake. JFST Vol. 8, No. 29, p. 81-88.

Baeva, M.R., Panchev, I.N., & Terzieva, V.V. (2000). Comparative study of texture of normal and energy reduced sponge cakes. Die Nahrung, 44, 242-246.

Berry, T. K., Yang, X., & Foegeding, E. A. (2009). Foams prepared from whey protein isolate and egg white protein: 1. Changes associated with angel food cake functionality. *Journal of Food Science*, 74, E269–E277.

Caballero, P. A., Go'mez, M., and Rosell, C. M. 2007. Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination. *Journal of Food Engineering*, 81(1):42–53.

Chawla, R. Ramdan patil, G. Kumar singh, A. 2013. Effect of temperature on sensory and textural attributes of functional doda burfi (*Indian milk cakr*). *J Food Sci Technol*. DOI 10.1007/s13197-013-1027-6.

Curic, D., Novotni, D., Skevin, D., Rosell, C.M., Collar, C., Le Bail, A., Colic-Baric, I. & Gabric, D. 2008. Design of a quality index for the objective evaluation of bread quality: Application to wheat breads using selected baked off technology for bread making. *Food Research International*, 41: 714-719.

Dendy, D. A. V. & Bogelan, J. D. (2001). Cereal and cereal products chemistry and Technology. *An Aspen publication*. pp. 235, 237-239.

Esteller, M.S., Zancanaro, J.O. & Da Silva Lannes, S.C. 2006. The effect of kefir addition on microstructure parameters and physical properties of porous white bread. *European Food research and Technology*, 222: 26-31.

Hess, A., Setser, C.S. 1983. Alternative systems for sweetening layer cake using aspartame with and without fructose. *Cereal Chemistry*, 60, 337-341.

Hoffstrand, J. T., M. V. Zaehringer, and R. A. Hibbs. 1965. Functional properties of two components of Cheddar cheese whey in bakery products. 1. Cake doughnuts. *Cereal Sci*. Today 10:212.

Kaur, A., Amarjeet, K., and Bakhshi, A. K. 2005. Development of free cakes by using whey protein concentrates. *Advances in Food Sciences*, ISSN 1431-7737.27(1): 2-5.

Kim, J., Shin, M. 2014. Effect of particle size distribution of rice flour on the quality of gluten free rice cupcakes. LWT *Food science and technology*, doi: 10.1016/ j.lwt.2014.04.042.

Kirk, D, 1971. Milk and Milk Based Products for Bakers. The Bakers Digest, Page 45(5): 52.

Lashkari, F. Mohammadzadeh Milani, J. Moetamedzadegan, A. Maleki. G. 2013. Properties of gluten free bread prepared from Iranian rice cultivars. Vol.1 (3): 187-198.

Lin, S.D., Hwang, C.F., & Yeh, C.H. (2003). Physical and sensory characteristics of chiffon cake prepared with erythritol as replacement for sucrose. *Journal of Food Science*, 68, 2107-2110.

Nasehi, B. Mortazavi, A. Razavi, S.M.A. Investigation on enthalpy changes in Iranian flat breads and Baguette during storage. 2006. IFST Vol.1, No. 2, p. 65-72.

Nickson, T. A. 1975. Use of milk derivatives in other food. Department of food science and technology, university og California. Davis 95616.

Nourmohammadi, E. Peighambardoust, S.H. Olad Ghaffari, A. 2012. Effect of mixing methods on physicochemical properties of batter and quality characteristics of sponge cake. Journal of food research Vol.2, No.3.

Ozkan, N. Walisinghe, N. Dong Chen, X, 2002. Characterization of stickiness and cake formation in whole and skim milk powders. *Journal of Food Engineering*, Vol 55. 293- 303.

Ofelt, C. W., Lamour, R. K., 1940. The effect of milk on the bromate requirement of flours. Cereal Chem. 17: 1-18.

Pedraja, R, 1965. The composition and Nutritional Value of Dry Milks. The Bakers Digest. 39(5): 46.

Pierce, M.M., & Walker, C.E. (1987). Addition of sucrose fatty acid ester emulsifiers to sponge cakes. *Cereal Chemistry*, 64, 222-225.

Pormohammadi, K. Alami, M. Shahedi, M. Sadeghi, A.R. 2011. Comparison of physicochemical characteristics of wheat bread containing barley-free whith bread containing barley. Journal of food research. Vol. 5, No. 2, p. 163-171.

Poursafar, L. Peighambardoust, S.H. Alizadeh Shalchi, L. Shakuoie Bonab. E. and Rafat. S.A. 2012. Effect of the temperature and time of flour heat treatment on the quality characteristics of sponge cake. EJFPP, Vol. 2 (4): 87-104.

Pyler, E. J, 1973. Baking: Science and Technology. VOL 1, Chapter 11, Page 487.

Rea, H.1950. Milk products in bread making. Bimonthly bulletion, Vol. xii, No. 5.

Sharma, A., Jana, A., Shrikantchaven, R. 2012. Functional of milk powders and milk based powders for end use applications. *Institute of food technologists*.vol.11.

Sigsworth, D. E. 1976, The effect of milk replacers on cake properties. B. A., Southern missionery college.

Singleton, A.D. Robertson, R. G, 1974. Nutritionally Equivalent Replacement of Nonfat Dry Milk in Bread. *The Bakers Digests*, 48(1): 46.

Sing, H. 2007. Interaction of milk proteins during the maniufacture of milk powders. *EDP science*.

Shittu, T.A., Dixon, A., Awonorin, S.O., Sanni, L.O. & Maziya-Dixon, B. 2008. Bread from composite cassava-wheat

flour. II: Effect of cassava genotype and nitrogen 30- fertilizer on bread quality. *Food Research International*, 41: 569-578.

Swaran, S., Chauhan, G. S., Raghuvanshi,R., Sharma, P., Chauhano, P ., and Bajpai, A.2003.Replacement egg solids with whey protein concentrate and optimization of its levels in cake making.*Journal of Food Science and Technology*, ISSN 0022-1155. 40(4): 386- 388.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 436-445

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 445-436

Effect of skim milk powder on the quality of Yazdi cake

M. Pourseyed[1]*, A. Motamedzadegan[2], J. Mohammadzadeh Milani[2]

Received: 2015.10.27
Accepted: 2016.02.27

Introduction: Converting milk into milk powder increases its shelf life up to almost 1 year, without substantial loss of quality, even at ambient temperatures. Dairy powder is frequently used because of convenience in applications for transportation, handling, processing, and ease of product formulations. Functional properties of milk powder are important due to its wide range of applications, especially in bakery products requiring desirable texture and moisture content. These functional properties include emulsification, foaming, water absorption, viscosity, gelation, and heat stability. Fresh milk and milk products such as condensed or dried milk which have not been exposed to sufficient heat treatment are not suitable for good quality bakery products as properly heated milk, mainly due to the destruction of proteolytic enzymes by heat, denaturation and coagulation of the proteins, changes in the colloidal properties of the salt and alterations in the oxidation-reduction systems. Kirk (1971) has outlined a list of functional contributions provided by skim milk powder (SMP) in various bakery food products, such as increased absorption, buffering value, lactose color reaction, tenderizing effect, improved body and resilience of crumb. This is in agreement with the results showed by Pyler who added SMP to bread and cake affected. Pyler noted the advantages of lactose in food systems. Lactose mostly affect relative sweetness, browning reaction, protein stabilizing properties, alteration of crystallization patterns, flavor accentuation, selective fermentation, and has nutritional value.

Materials and methods: Yazdi cake was produced using baking wheat flour (from Golha factory), sugar (sucrose), hydrogenated vegetable shortening, baking powder, and baking soda. Eggs were bought the day before baking and refrigerated at 4°C. The dough was prepared in ratio of 30 % oil, 46 % sugar, 50 % water, 11.7 % eggs, 4 % baking powder and 1 % baking soda rather than flour. For improvements of flavor and taste, an equal value of vanilla was added to the whole dough formulations. Skim milk powder containing 1.5 % fat, 3-4 % moisture has bought from Pegah factory. 25 and 50 percent of skim milk powder was also added to the dough. Dough was prepared based on the method of double mixture steps and was baked at 180°C in oven for 30 min. Samples were vacuumed and kept at ambient temperature for further experiments

Result and discussion: The differences in specific volume and consistency of the dough values were found to be significant ($p>0.01$). According to Baeva studies, there is an inverse relationship between specific gravity and the entry air bubbles in the dough, so the sample with 50% had the lowest specific volume. The consistency of the dough increased significantly by increasing in SMP content ($P<0.01$). The dough containing 50% SMP had the highest consistency.Specific volume of the cake increased with an increase in SMP level ($P <0.01$). Sample with 50% SMP showed the highest specific volume. The height difference before and after baking with increasing in SMP levels on oven spring were significant ($p>0.01$) so that samples with 50% SMP had the highest height after baking. Cakes prepared from dough with 50% SMP had an average maximum size. Symmetry and uniformity in samples with 25% SMP were the lowest, but there was no significant difference between the control and samples containing 50% SPM. In this study, crust to crumb ratio in control and other samples showed significant differences ($P <0.01$), so that with the addition of SMP, the crust was increased. The reason for this fact may be due to the increasing of lactose and developing the browning reactions. The testwas were performed for measuring some textural characteristics of Yazdi cake such as: cohesiveness, chewiness, gumminess, resilience, adhesiveness, springiness and hardness. With an increase in SMP, some factors such as adhesiveness, chewiness, gumminess and hardness decreased ($P <0.01$), but some others such as cohesiveness and resilience increased ($P <0.01$). However, springiness remained unchanged. The reasons for these changes can be explained by proteins, fats and lactose content in milk. According to the results, different levels of SMP caused increasing in total cell number, total area of the cell, and average area per cell. However, minimum cell

1. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Tajan High Education Institute, Ghaemshahr, Mazandaran.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran.
(*Corresponding Author Email: amotgan@yahoo.com)

diameter decreased (P <0.01). The minimum and the maximum diameter of the control cakes and 25% samples did not made a significant difference, While 50% samples increased in both cases significantly. As a result, samples with 50% SMP showed the highest total area of the cell, highest maximum cell diameter and lowest minimum diameter, while the largest pores and wider structure.

Key words: Physicochemical Properties, Skim Milk Powder, Dough, Yazdi Cake, Quality, Texture

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 446-457

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 457-446

اثر نانوفیبر سلولز و کربوکسی‌متیل سلولز بر ویژگی‌های رئولوژیکی و اندازه ذرات مایونز کم‌چربی

لاله گلچوبی[1]- مزدک علیمی[2]- حسین یوسفی[3]

تاریخ دریافت: 1394/07/20
تاریخ پذیرش: 1394/11/24

چکیده

نانوفیبر سلولز (NFC) پلیمر خطی D-گلوکز با مناطق کریستالی و آمورف می‌باشد که به‌صورت توأم با کربوکسی متیل سلولز (CMC) به میزان 0% تا 1% با هدف بهبود خصوصیات رئولوژیکی مایونز کم‌چربی (30% روغن) استفاده گردید. پس از تهیه 5 تیمار، آزمون ویسکوزیته ظاهری روی آنها انجام شد. سپس 3 نمونه منتخب تحت آزمون‌های رئولوژیکی، تعیین اندازه ذرات و میکروسکوپ نوری قرار گرفتند. نمونه حاوی 0/5% نانوفیبر سلولز- 0/5% کربوکسی متیل سلولز با داشتن کوچکترین اندازه ذرات و میزان یکنواختی کمتر از نمونه شاهد تجاری، دارای نزدیکترین مقدار ویسکوزیته ظاهری به ویسکوزیته نمونه شاهد تجاری بود ($p<0/05$). از برازش داده‌ها با مدل هرشل بالکی مشخص شد که افزودن توأم نانوفیبر سلولز و کربوکسی متیل سلولز موجب تغییر معنادار در شاخص‌های رئولوژیکی مورد بررسی نشد ($p>0/05$). طی آزمون روبش فرکانس، روند تغییرات مدول الاستیک نمونه‌ها در سطحی بالاتر از مدول ویسکوز ($G'>G''$) قرار گرفت و بیانگر تقویت ویژگی‌های الاستیک در آنها بود. با توجه به نتایج آزمون‌ها، تیمار حاوی 0/5% نانوفیبر سلولز- 0/5% کربوکسی متیل سلولز به عنوان بهترین تیمار معرفی گردید.

واژه‌های کلیدی: نانوفیبر سلولز، کربوکسی متیل سلولز، مایونز کم‌چربی، رئولوژی، اندازه ذرات

مقدمه

در طول دهه گذشته، مصرف محصولات غذایی کم‌چربی (LF) به دلیل ازدیاد بیماری‌های قلبی- عروقی و سرطان افزایش چشمگیری داشته است (Liu *et al*, 2007). یکی از فراورده‌های پرچربی (65%-80% وزنی روغن گیاهی) که مصرف زیادی در جهان دارد، سس مایونز می‌باشد که تولید انواع کم‌چربی آن با استقبال فراوانی همراه شده است (Kalashnikova *et al*., 2012). هیدروکلوئیدها در تهیه محصولات کم‌چربی، خواص خوبی از قبیل افزایش پایداری و بهبود شبیه‌سازی چربی در دهان را نشان می‌دهند (Quintana *et al*., 2002; Choonhahirun, 2006). یکی از هیدروکلوئیدهای متداول در فرمولاسیون فراورده‌های کم‌چربی از جمله مایونز، سلولز و مشتقات حاصل از اصلاح فیزیکی آن مانند نانوفیبر سلولز (NFC) می‌باشد (Coffey *et al*., 2006; Lavoine *et al*., 2010). نانوفیبر سلولز به پلیمرهای گلوکز با ضخامت معمول 20-40 نانومتر و طول بلندتر از 5 میکرومتر شامل هر دو مناطق کریستالی و آمورف اطلاق می‌شود که توسط پیوندهای گلوکوزیل β (1-4) به‌هم متصل شده‌اند (Yousefi *et al*., 2011). مقادیر مدول ذخیره ژل‌های نانوفیبریل سلولز بالا بوده و تقریبا بیش از 2 برابر ژل‌های سلولز گزارش شده است. در واقع بالا بودن نسبت ابعاد نانوفیبریل‌ها منجر به افزایش استحکام شبکه ژلی می‌شود و صرف نظر از غلظت سوسپانسیون، مدول ذخیره سوسپانسیون نانو فیبر سلولز تقریباً 10 برابر بیشتر از مدول افت آن گزارش شده است (Paakko *et al*., 2007; Lavoine *et al*., 2010). این مدول ذخیره بالا، به دلیل طویل بودن فیبریل‌ها می‌باشد که به‌طور ذاتی یک ساختار شبکه‌ای درگیر را تشکیل داده و می‌تواند سبب کاربرد زیاد آن به‌عنوان یک قوام‌دهنده، پایدارکننده بدون کالری سوسپانسیون‌ها و یا ژل‌کننده در انواع گسترده‌ای از محصولات غذایی گردد (Bogati, 2011). کربوکسی متیل‌سلولز (نمک سدیم) یک پلیمر آنیونی، خطی و محلول در آب است که مشتق حاصل از اصلاح شیمیایی سلولز بوده و از تیمار قلیایی سلولز با کلرو استیک‌اسید به‌دست می‌آید (Coffey *et al*., 2006). کربوکسی متیل سلولز به دلیل داشتن خواص قوام‌دهندگی و امولسیفایری در مایونز و سس‌های سالاد مورد استفاده

1 و2- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات آیت‌الله آملی
3- استادیار، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(* - نویسنده مسئول: Email: Ahooora_mazdak@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.50555

قرار می‌گیرد (McClements, 2005). به دلیل ماهیت بسیار آبدوست مشتقات فیزیکی سلولز، اغلب مطالعات روی پایداری امولسیون‌های روغن در آب به ویژه سس‌های سالاد یا مایونز کم کالری و بدون کالری، توسط میکرو کریستالین سلولز (MCC) یا نانوفیبر سلولز انجام شده است (McGinley *et al*., 1997; Kalashnikova *et al*., 2012; Winuprasith & Suphantharika, 2015). با این حال، اطلاعات قابل دسترسی از کاربرد مخلوط نانوفیبر سلولز و کربوکسی‌متیل سلولز وجود ندارد. هدف از این پژوهش بررسی اثرات افزودن نانوفیبر سلولز و کربوکسی متیل‌سلولز بر ویژگی‌های رئولوژیکی و اندازه ذرات مایونز کم‌چربی و مقایسه توانایی هر یک از آنها به تنهایی و مخلوط آنها، در پایدار نمودن این امولسیون کم‌چربی بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد

در این تحقیق از ژل 3% نانوفیبر سلولز تولید شده از ضایعات کشاورزی توسط شرکت دانش بنیان نانو نوین پلیمر (قطر متوسط 32 ± 10 نانومتر و طول بیشتر از 5 میکرومتر (کاتالوگ محصول))، کربوکسی‌متیل سلولز تولید شرکت سانروز ژاپن، نشاسته اصلاح شده (E-1422) ذرت مومی پیش ژلاتینه شرکت روکت با نام تجاری پرگفلو CH_2O تولید کشور فرانسه و مواد تشکیل‌دهنده مایونز فراهم شده توسط شرکت غذایی بهروز نیک استفاده گردید.

تهیه و آماده‌سازی فاز آبی حاوی ژل نانو فیبر سلولز

مقدار نانوفیبر سلولز هر فرمول با میزان آب مربوط به همان فرمول، مخلوط و روی هیتر قرار گرفتند تا توأم با همزدن، مخلوط یکنواخت به جوش آید و به مدت 7 دقیقه در این دما پاستوریزه و نهایتاً تا دمای اتاق خنک شد (Alimi *et al*., 2013). وزن مخلوط قبل و بعد از پاستوریزاسیون، تعیین شد و تفاوت وزن حاصل از تبخیر، در حین تهیه امولسیون سس مایونز به‌صورت آب به فرمول افزوده گردید.

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های مایونز

جهت تهیه نمونه‌های مایونز، کربوکسی متیل سلولز مورد استفاده برای هر فرمول به همراه مواد پودری مربوطه، بکار برده شد. پس از توزین مواد پودری (شکر- 5/7٪، نمک= 2٪، پودر خردل= 0/5٪، بنزوات سدیم= 0/04٪، سوربات پتاسیم= 0/03٪، اسید سیتریک= 0/1٪ و نشاسته فرایند سرد= 1/8٪) و کربوکسی متیل سلولز، ابتدا زرده تخم‌مرغ (5٪) و مقدار 10% از روغن به میکسر آزمایشگاهی (60 کیلوگرمی، ارکان فلز، ایران) افزوده شد و سپس به‌ترتیب، تمام مواد پودری و حدود یک سوم از فاز آبی (نانوفیبر سلولز و آب) به آن اضافه گردید. در نیمه فرآیند، یک سوم بعدی فاز آبی و باقی‌مانده روغن نیز اضافه گردید. کل روغن فرمولاسیون =30٪، به تدریج طی مدت 6 دقیقه به امولسیون مایونز افزوده شد. نهایتاً با اتمام روغن، یک سوم پایانی فاز آبی و در آخر نیز سرکه فرمولاسیون (سرکه 11 درصد= 4/8%) به مخلوط اضافه گردید و به مدت 1 دقیقه همزده شد (Alimi *et al*., 2013). آنگاه نمونه‌های تولید شده با مقادیر مختلف نانوفیبرسلولز و کربوکسی‌متیل سلولز، مطابق جدول (1) کدگذاری شدند. نمونه شاهد، مایونز کم‌چربی تجاری (30% روغن) شرکت بهروز نیک بود.

جدول 1- مقادیر هیدروکلوئیدهای موجود در نمونه‌های مایونز کم چربی

کد نمونه	مقدار نانو فیبر سلولز (1-0%)	مقدار CMC (1-0%)
NFC100	1	0
NFC75/CC25	0/75	0/25
NFC50/CC50	0/50	0/50
NFC25/CC75	0/25	0/75
CC100	0	1
Commercial Control	0	0

آزمون تعیین ویسکوزیته ظاهری

جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته تمامی نمونه‌های سس مایونز از دستگاه ویسکومتر دورانی ویسکوتچ (اسپانیا) با اسپیندل دیسکی R5 با سرعت 60 دور در دقیقه و دمای 23-20 درجه سانتی‌گراد در طی مدت زمان 20 دقیقه استفاده گردید (Alimi *et al*., 2013).

قابل ذکر است که نمونه‌های مایونز کم‌چربی در یک مرحله تولید شدند و پس از یک هفته نگهداری در دمای یخچال، تحت آزمون‌های مختلف با دو بار تکرار قرار گرفتند. همچنین آزمون‌های

بررسی رفتار جریان، نوسانی (کرنش متغیر و فرکانس متغیر)، تعیین اندازه ذرات و میکروسکوپ نوری تنها روی 3 نمونه منتخب و نمونه شاهد تجاری صورت گرفت.

آزمون بررسی رفتار جریان و آزمون نوسانی

این آزمون‌ها توسط دستگاه رئومتر آنتون پار مدل MCR 501 (اتریش) با 2 صفحه موازی زبر[1] قطر صفحه 25 میلی‌متر و فاصله ایجاد شده بین دو صفحه 1 میلی‌متر روی 3 نمونه منتخب و نمونه شاهد تجاری، در دمای 24-23 درجه سانتی‌گراد انجام شد. جهت کنترل دما، نمونه‌ها قبل از آزمون در انکوباتور با دمای 24 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Alimi *et al*., 2013). در آزمون رفتار جریان طبق معادله (1) از مدل هرشل بالکی و محدوده نرخ برش $^{-1}$ 0/01 -200S استفاده گردید.

$$\tau = \tau_y + k \times \gamma^{\cdot n} \quad (1)$$

τ: تنش برشی، τ_y: تنش تسلیم، k: ضریب قوام، $\gamma^{\cdot}$: سرعت برشی و n: شاخص رفتار جریان است.

آزمون‌های نوسانی نیز بر دو نوع آزمون کرنش متغیر و آزمون فرکانس متغیر بوده است. آزمون کرنش متغیر در کرنش متغیر 100-0/01% و فرکانس ثابت 1 هرتز، به‌منظور تعیین ناحیه ویسکوالاستیک خطی انجام شد. سپس آزمون فرکانس متغیر در منطقه ویسکوالاستیک خطی، در مقدار کرنش ثابت 0/4% و فرکانس متغیر 100-0/01 هرتز صورت پذیرفت (Alimi *et al*., 2013).

آزمون تعیین اندازه ذرات

در این آزمون از دستگاه آنالیزگر اندازه ذرات مالورن 2000 مدل Ver. 5.1 (انگلیس) و حلال آب مقطر، نور لیزر با طول موج 634 نانومتر و سل نمونه کوارتز در دمای 23-20 درجه سانتی‌گراد استفاده گردید و میانگین قطر ذرات نمونه‌ها به‌صورت درصد حجمی- سطحی ارائه شد (Worrasinchai *et al*., 2006).

$$(d_{4,3} = \sum n_i d_i^4 / \sum n_i d_i^3) \quad (2)$$

میکروسکوپ نوری

در این آزمون از میکروسکوپ نوری جناور مدل کارل زئیس (آلمان) ، لنز شماره 10 و بزرگنمایی 100 میکرومتر جهت گرفتن تصاویر میکرومتری از ذرات پخش شده در نمونه‌ها استفاده شد. طی این آزمون، مقدار بسیار اندکی از هر نمونه بر روی لام گسترش یافته و سپس بر روی جایگاه مخصوص لام، موجود در زیر لنز میکروسکوپ نوری قرار گرفت. با توجه به میزان وضوح تصاویر و اندازه قطرات فاز پراکنده امولسیون، لنز مورد نظر انتخاب گردیده و گرفتن عکس‌ها صورت پذیرفت. در گرفتن عکس‌ها نباید تاخیر زیادی نمود. زیرا نمونه‌های گسترش یافته بر روی لام، خشک شده و تصاویر وضوح خوبی نخواهند داشت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های مختلف، از نرم‌افزار MINI TAB 16 استفاده شد و تجزیه و تحلیل‌ها منطبق با طرح کاملا تصادفی متعادل و در سطح احتمال خطای 0/05 انجام گرفت. با استفاده از این نرم‌افزار ابتدا نرمال بودن نتایج بررسی شد. سپس اگر نتایج بر منحنی توزیع نرمال منطبق بودند، از آزمون پارامتری آنالیز واریانس ANOVA و در صورت عدم انطباق، از آزمون غیرپارامتری کروسکال- والیس جهت بررسی تفاوت معنی‌دار بین داده استفاده گردید. بررسی معنادار بودن میانگین نتایج نمونه‌ها با یکدیگر نیز با استفاده از آزمون Tukey's pairwise comparision انجام شد (Alimi *et al*., 2013).

نتایج و بحث

ویسکوزیته ظاهری

طبق جدول (2) تمامی نمونه‌های حاوی کربوکسی‌متیل‌سلولز دارای اختلاف معنی‌دار و ویسکوزیته ظاهری کمتری نسبت به نمونه شاهد تجاری بودند ($p<0/05$). به‌طوری که از میان این نمونه‌ها، بالاترین و نزدیکترین میزان ویسکوزیته ظاهری به ویسکوزیته نمونه شاهد تجاری، در نمونه حاوی 0/5% نانوفیبر سلولز - 0/5% کربوکسی‌متیل‌سلولز (NFC50/CC50) و کمترین میزان آن در نمونه حاوی 1% کربوکسی‌متیل‌سلولز (CC100) دیده شد. از مقایسه دو نمونه حاوی 1% نانوفیبر سلولز و 1% کربوکسی متیل سلولز (NFC100 و CC100) می‌توان دریافت که خاصیت قوام‌دهندگی نانوفیبر سلولز بیشتر از کربوکسی‌متیل‌سلولز می‌باشد. در واقع نانوفیبر سلولز همانند میکروکریستالین سلولز (MCC) از مشتقات اصلاح فیزیکی سلولز بوده و به دلیل داشتن هر دو منطقه کریستالی و آمورف، قابلیت جذب آب بیشتری نسبت به میکرو کریستالین سلولز دارد. در واقع مناطق آمورف نانوفیبر سلولز به دلیل کاهش اتصالات داخل مولکولی، قادر به ایجاد پیوندهای هیدروژنی بیشتری با مولکول‌های آب می‌باشند (Coffey *et al*., 2006; Yousefi *et al*., 2011). در حالیکه کربوکسی‌متیل‌سلولز جزء هیدروکلوئیدهای با قابلیت ایجاد ویسکوزیته کم بوده (Rajah, 2002) و به‌طور کلی با افزایش کربوکسی‌متیل‌سلولز، ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های مایونز روند کاهشی داشته است. از سوی دیگر Ahola (2008) نیز نتایج مشابهی را در مورد اینترکشن نانوفیبرسلولز با پلیمرهای آنیونی (CMC) گزارش نموده است. او دریافت که اینترکشن نانوفیبریل‌های سلولز مشابه اینترکشن فیبرهای سلولز بوده اما ساختار ژل‌مانند و

گستردگی منطقه سطحی ویژه نانوفیبریل‌ها، بر روی بسیاری از پدیده‌های بین سطحی آنها از قبیل متورم شدن و جذب پلیمرها بر روی سطوح، اثر می‌گذارد. به‌طوریکه کربوکسی‌متیل‌سلولز مقداری دافعه الکتروستاتیک به سلولز داشته و جذب غیرقابل برگشت آن روی سلولز، نیازمند دمای بالاتر می‌باشد. در واقع افزودن کربوکسی‌متیل‌سلولز به محلول‌های نانوفیبر سلولز در مقایسه با یک پلیمر خنثی، اثر پراکنده شدن و ایجاد ویسکوزیته کمتری را نشان می‌دهد. آزمون‌های هیدرودینامیکی پلی‌ساکاریدهای جذب شده بر روی نانوفیبر سلولز توسط Eronen و همکاران (2010) نیز نشان داد که ضخامت لایه کربوکسی‌متیل‌سلولز جذب شده توسط نانوفیبرسلولز بسیار کمتر از ضخامت لایه پلیمر خنثی جذب شده بر روی آن بوده که متعاقبا موجب اتصال مقدار کمتری از آب با این پلی‌ساکارید و ایجاد قوام کمتر در فاز پیوسته آبی گردید. به‌نظر می‌رسد تنها نمونه حاوی 0/5% نانوفیبر سلولز - 0/5% کربوکسی‌متیل‌سلولز (NFC50/CC50) به دلیل اینترکشن سینرژیستی مناسب بین نانوفیبرسلولز و کربوکسی‌متیل‌سلولز در مقدار 0/5%، توانسته ویسکوزیته بالاتری را نسبت به سایر نمونه‌های حاوی کربوکسی‌متیل‌سلولز نشان دهد.

جدول 2- نتایج آزمون ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های مایونز کم‌چربی

کد نمونه	ویسکوزیته (mPa.s)
NFC100	3970 ± 70/7 [c]
NFC75/CC25	3435 ± 120/2 [c]
NFC50/CC50	4525 ± 77/8 [b]
NFC25/CC75	1945 ± 49/5 [d]
CC100	1405 ± 35/4 [e]
Commercial Control	5150 ± 14/1 [a]

نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده و مقادیر با حرف فوقانی مشابه، اختلاف معناداری با یکدیگر ندارند ($p>0/05$).

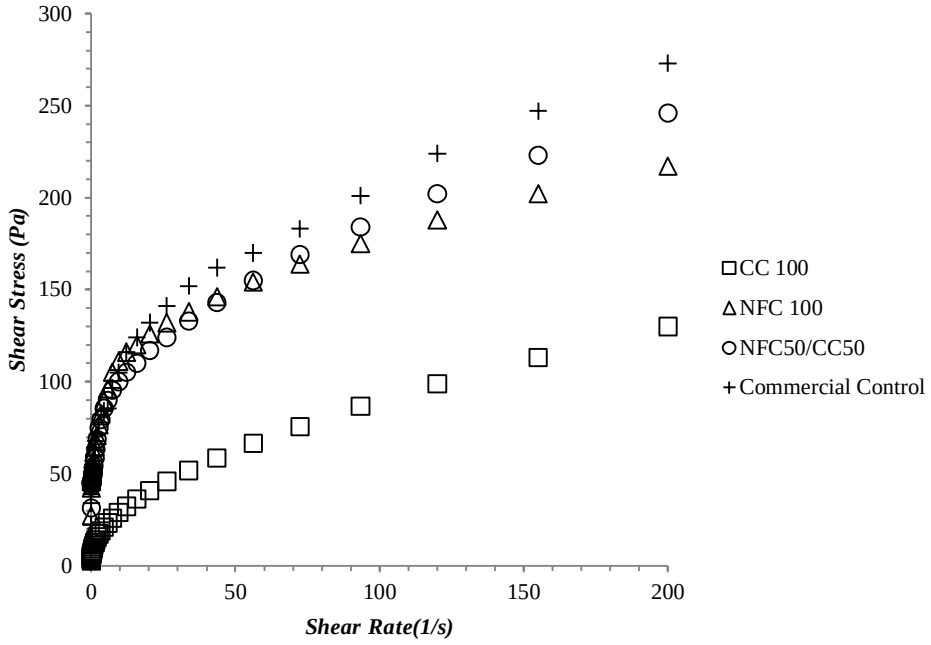
ویژگی‌های رئولوژیکی

نتایج بررسی آزمون رفتار جریان

طبق منحنی رفتار جریان شکل (1)، همه نمونه‌های مایونز رفتار رقیق‌شونده با برش یا سودوپلاستیسیته نشان دادند که مطابق با یافته‌های قبلی بود (Ma & Barbosa-Canovas, 1995; Mun *et al*., 2009; Su *et al*., 2010). این رفتار جریان نتیجه تخریب شبکه ژلی ناشی از هیدروکلوئیدها در فاز پیوسته آبی بوده که نهایتاً منجر به کاهش ویسکوزیته ظاهری و تشدید سودوپلاستیسیته می‌شود. در واقع در امولسیون‌های متراکم، قطرات به اندازه کافی به یکدیگر نزدیک شده و اینترکشن آنها با یکدیگر منجر به تشکیل شبکه سه‌بعدی قطرات تجمع یافته می‌گردد. زمانی که سرعت برشی افزایش می‌یابد، نیروهای هیدرودینامیک موجب می‌شوند تا تجمع قطرات، شکل خود را از دست داده و حتی شکسته شوند که این پدیده سبب کاهش ویسکوزیته می‌گردد (Worrasinchai *et al*., 2006; Thomareis & Chatziantoniou .Mun *et al*., 2009) نیز گزارش کردند که کربوکسی‌متیل‌سلولز در غلظت‌های کمتر از 2/3% سبب ایجاد خواص سودوپلاستیک در ژل‌های امولسیونی می‌شود که با رفتار جریان ناشی از بکارگیری غلظت 1% کربوکسی‌متیل‌سلولز و کمتر از آن، در این پژوهش مطابقت داشته است. در مورد نمونه NFC100 که شامل 1% نانوفیبر سلولز بوده، باید گفت که رفتار رقیق‌شوندگی با برش سوسپانسیون نانوفیبر سلولز بکار رفته در آن نیز در القاء این رفتار جریان به نمونه مایونز مذکور تاثیر زیادی داشته است (Coffey *et al*., 2006). مشاهده رفتار رقیق‌شوندگی با برش در نمونه حاوی 0/5% نانوفیبر سلولز - 0/5% کربوکسی‌متیل‌سلولز (NFC50/CC50) نیز با توجه به استفاده توام دو هیدروکلوئید دارای خصوصیت رقیق‌شوندگی با برش، دور از انتظار نبوده است.

نتایج این آزمون با مدل هرشل بالکلی تطبیق داده شده و در جدول (3) آمده است. R^2 یا ضریب تبیین نمونه‌ها نیز در محدوده 0/989 تا 0/996 قرار داشته که حاکی از انطباق نتایج با این مدل ریاضی می‌باشد. نمونه‌های NFC100 و NFC50/CC50 اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد تجاری نداشته و دارای تنش تسلیم بالایی بودند ($p<0/05$) اما نمونه CC100 دارای اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد تجاری بوده و تنش تسلیم کمتری داشت ($p<0/05$). تنش تسلیم هنگام استفاده از مایونز به‌عنوان چاشنی سالاد، یک ویژگی مهم می‌باشد. زیرا مایونز باید از توانایی مناسبی جهت عدم سیال شدن بر روی سطح سالاد برخوردار باشد (Liu *et al*, 2007). به‌نظر می‌رسد ژل نانوفیبر سلولز دارای تنش تسلیم بالایی بوده و افزودن کربوکسی‌متیل‌سلولز نتوانسته اثر چندانی بر این قابلیت نانوفیبرسلولز در نمونه NFC50/CC50 بگذارد. در ارتباط با k یا ضریب قوام که با ویسکوزیته ظاهری رابطه نزدیکی دارد، هیچ یک از نمونه‌ها دارای

اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد تجاری نبودند (p>0/05) اما نمونه CC100دارای مقادیر پایینتر ضریب قوام بوده و با نتایج آزمون ویسکوزیته ظاهری مطابقت داشت. n یا اندیس رفتار جریان بیانگر چگونگی رفتار رئولوژیکی نمونه‌ها می‌باشد که در تمامی نمونه‌ها کوچکتر از 1 و نشان‌دهنده رفتار غیرنیوتنی و رقیق‌شوندگی با برش بوده و اختلاف معنی‌داری در بین آنها و نمونه شاهد تجاری دیده نشد (p>0/05). تطابق این نتایج با نمودارهای شکل (1) و (2) به وضوح قابل مشاهده است. این اثر هیدروکلوئیدها روی ویژگی‌های سودوپلاستیک مایونز پیش‌تر توسط Alimi و همکاران (2013)، Nikzade و همکاران (2012)، Izidoro و همکاران (2008)، گزارش شده بود. از مقایسه نتایج جدول (3) و شکل (1) می‌توان گفت که از بین نمونه‌های حاوی هیدروکلوئید، روند مقادیر اندیس رفتار جریان در نمونه CC100 افزایش یافته و رفتار رقیق‌شوندگی با برش شاخصی از خود نشان نداده است.



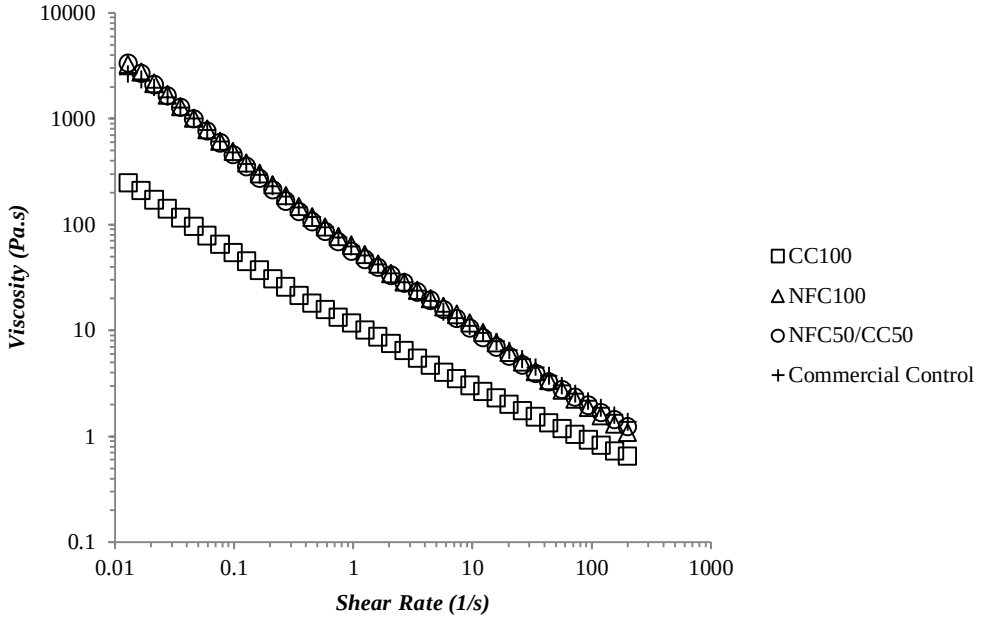
شکل 1- روند تغییرات تنش برشی نسبت به سرعت برشی نمونه‌های مایونز کم چربی

جدول 3- ویژگی‌های رئولوژیکی و شاخص‌های تعیین و توزیع اندازه ذرات نمونه‌های مایونزکم‌چربی

کد نمونه	τ_y (Pa)	k (Pa. S ^{n})	n	D[4,3]	یکنواختی
NFC100	30/1 ±2/5^{a}	28/1 ±9/3^{ab}	0/3 ±0/05^{a}	61/4±0/14^{b}	1/55±0/01^{c}
NFC50/CC50	30/4±7/1^{a}	30/4 ±10/4^{a}	0/3 ±0/05^{a}	31/7±0/14^{d}	1/70±0/01^{b}
CC100	11/1 ±1/2^{b}	20/9 ± 0/9^{b}	0/4 ±0/06^{a}	73/8±0/14^{a}	1/88 ±0/01^{a}
Commercial Control	42/1 ±0/3^{a}	25/6±1/0^{ab}	0/3 ±0/01^{a}	45/3±0/14^{c}	1/40±0/01^{d}

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده و مقادیر با حرف فوقانی مشابه، اختلاف معناداری با یکدیگر ندارند (p>0/05).

همچنین طبق شکل (2)، با افزایش سرعت برشی از 2001/s-0/01، ویسکوزیته تمامی نمونه‌ها کاهش یافته است که بیانگر رفتار سودوپلاستیکی یا رقیق‌شوندگی با برش تمامی نمونه‌ها و تاییدکننده نتایج جدول (3) می‌باشد (Worrasinchai *et al.*, 2006). مطابق با این شکل، نمونه CC100 کمترین ویسکوزیته را نشان داده که مطابق نتایج اندازه‌گیری ویسکوزیته ظاهری در جدول (2) نیز مطابق بود.

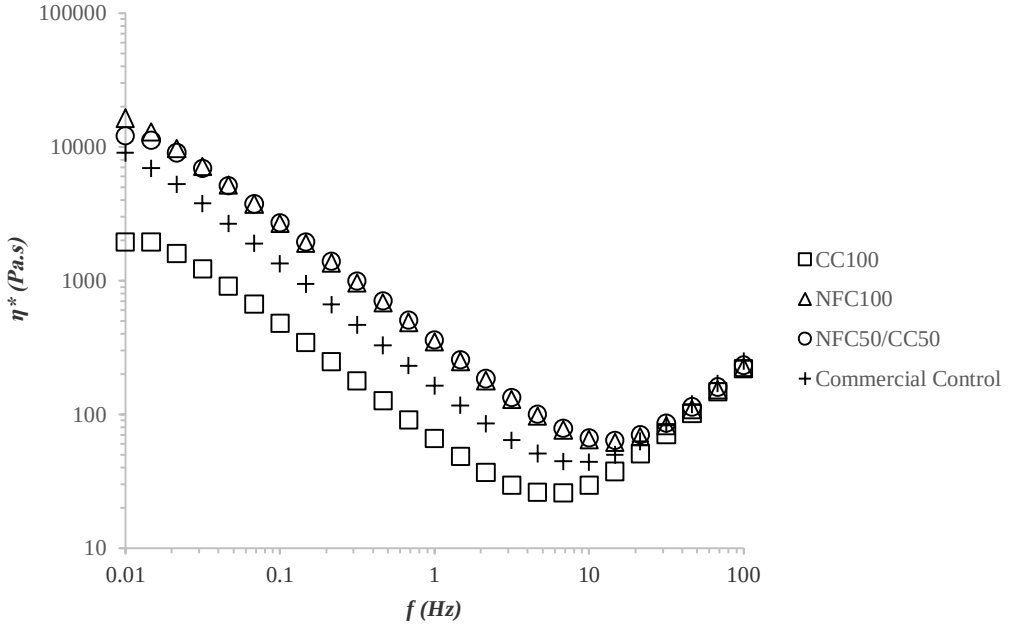


شکل 2- روند تغییرات ویسکوزیته نسبت به سرعت برشی نمونه‌های مایونز کم چربی

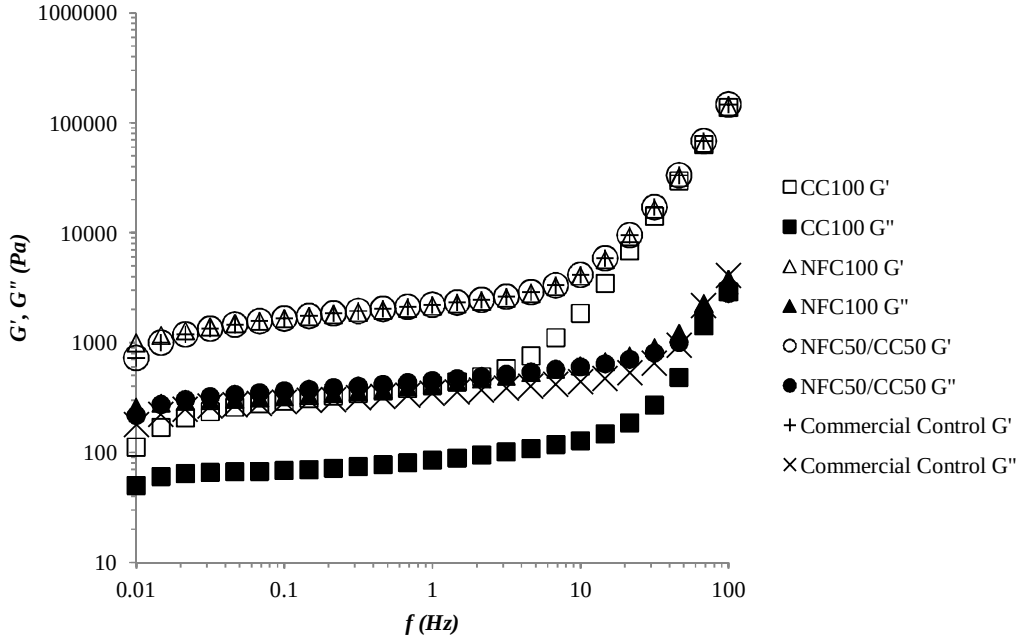
آزمون نوسانی و ویژگی‌های ویسکوالاستیک

در تمامی نمونه‌ها، ویسکوزیته حاصل از افزایش سرعت برشی کمتر از ویسکوزیته کمپلکس (η^*) حاصل از آزمون روبش فرکانس می‌باشد. زیرا آزمون فرکانس متغیر در منطقه ویسکوالاستیک خطی انجام گردیده که موجب به حداقل رساندن تخریب ساختار سه بعدی نمونه‌ها شده است (Worrasinchai *et al*., 2006). طبق روند تغییرات ویسکوزیته کمپلکس (η^*) نسبت به فرکانس در شکل (3) با افزایش فرکانس، ویسکوزیته کمپلکس کاهش یافته و رفتار سودوپلاستیک یا رقیق‌شوندگی با برش نمونه‌ها کاملاً مشهود می‌باشد. در تمامی فرکانس‌ها، روند تغییرات ویسکوزیته کمپلکس نمونه‌های حاوی 1% نانوفیبر سلولز و 0/5% نانوفیبر سلولز - 0/5% کربوکسی‌متیل سلولز (NFC100 و NFC50/CC50) به‌هم و به نمونه شاهد تجاری نزدیک بوده است. در حالیکه نمونه حاوی 1% کربوکسی‌متیل‌سلولز (CC100) کمترین میزان ویسکوزیته کمپلکس را در تمامی فرکانس‌ها، در مقایسه با سایر تیمارها نشان داده است. این نتیجه در تصدیق نتایج آزمون ویسکوزیته ظاهری در جدول (2) و روند تغییرات ویسکوزیته با سرعت برشی در شکل (2) برای نمونه حاوی 1% کربوکسی‌متیل‌سلولز بوده است.

طی آزمون کرنش متغیر، روند تغییرات مدول الاستیک یا ذخیره (G') و مدول ویسکوز یا افت (G") نسبت به کرنش (100-0/01%) در فرکانس ثابت 1 هرتز بررسی شد و میزان کرنش در منطقه ویسکوالاستیک خطی 0/5% بدست آمد که به منطقه تعیین شده برای مایونزهای کم‌چربی در تحقیق Alimi و همکاران (2013) بسیار نزدیک بوده است (0/4%). با توجه به شکل (4) که نمایانگر نتیجه آزمون فرکانس متغیر نمونه‌ها می‌باشد، در تمامی نمونه‌ها روند تغییرات مدول الاستیک (G') بالاتر از مدول ویسکوز (G'') بوده که بیانگر رفتار غالب الاستیک در نمونه‌ها می‌باشد. همچنین با توجه به اینکه در محدوده فرکانس مورد آزمون (100-0/01 هرتز)، هر دو مدول وابستگی زیادی به تغییر فرکانس نشان دادند می‌توان تمامی آنها را به‌عنوان ژل ضعیف طبقه‌بندی نمود (Lorenzo *et al*, 2008). رفتار ژل‌مانند نمونه‌ها نسبت به فرکانس را می‌توان به ساختار سه‌بعدی ژلی ناشی از درگیری‌های فیزیکی در میان زنجیره‌های پلیمری و اینترکشن سینرژیستی بین دو هیدروکلوئید نسبت داد (Lorenzo *et al*., 2008). ویژگی‌های ژل ضعیف مایونز در محدوده فرکانس 100-0/01 هرتز توسط Alimi و همکاران (2013)، 100-0/1 هرتز توسط Worrasinchai و همکاران (2006) و 10-0/1 هرتز توسط Mancini و همکاران (2002) گزارش شده بود. به‌طور کلی انتظار می‌رود که امولسیون‌ها با میزان روغن زیاد، مقادیر G' بالایی نشان دهند (Ma & Barbosa-Canovas, 1995) که در این پژوهش اثر کاهش میزان چربی توسط جایگزین نمودن چربی با نانوفیبرسلولز و کربوکسی‌متیل‌سلولز در فرمولاسیون متعادل گردید.



شکل 3- تغییرات ویسکوزیته کمپلکس نمونه‌های مایونز کم‌چربی نسبت به فرکانس



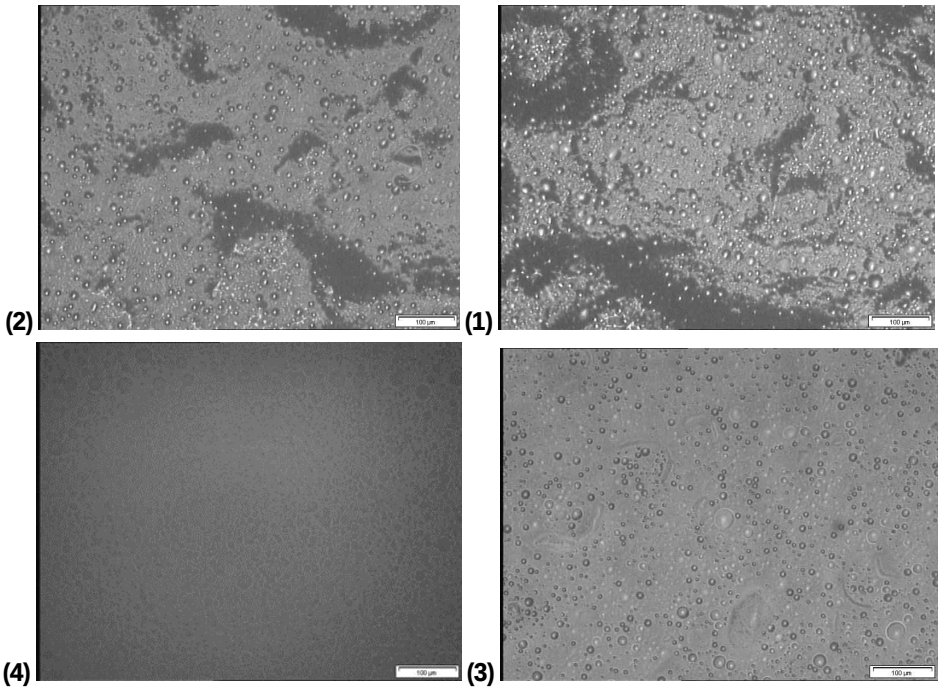
شکل 4- تغییرات مدول ذخیره و افت نمونه‌های مایونز کم‌چربی نسبت به فرکانس

در واقع این هیدروکلوئیدها به ساختار ژلی مایونزها استحکام بخشیدند و سبب افزایش مدول الاستیک آنها شدند (Worrasinchai *et al*., 2006). البته باید توجه شود که نمونه‌های حاوی نانوفیبر سلولز (NFC100 و NFC50/CC50) دارای مدول

الاستیک (G') بیشتر از نمونه حاوی کربوکسی‌متیل‌سلولز (CC100) بودند. زیرا نانوفیبر سلولز با داشتن خواص ذاتی جالبی از قبیل نسبت سطح به حجم بالا، انعطاف‌پذیری، گروه‌های هیدروکسیل زیاد در سطح و بالا بودن ظرفیت نگهداری آب می‌تواند در غلظت پایین، ژل‌هایی با مقادیر مدول الاستیک بالا تشکیل دهد که منجر به افزایش استحکام شبکه ژلی می‌شود (Ahola, 2008). Paakko و همکاران (2007) نیز طی مطالعات خود گزارش کردند که صرف نظر از غلظت سوسپانسیون، مدول الاستیک سوسپانسیون نانوفیبر سلولز تقریباً 10 برابر بیشتر از مدول افت آن می‌باشد. تمامی این ویژگی‌های نانوفیبر سلولز توانسته بر ویژگی‌های ویسکوالاستیک نمونه‌های مایونز حاوی آن تاثیرگذار باشد

تعیین و توزیع اندازه ذرات

طبق شکل (4) و جدول (3) نمونه CC100 که دارای کمترین مقادیر G' و G'' بوده، نسبت به دیگر نمونه‌ها حاوی ذرات با اندازه بزرگتر بوده است. این یافته‌ها با نتایج Worrasinchai و همکاران (2006)، Langton و همکاران (1999) مطابقت داشته است. Langton و همکاران (1999) با اندازه‌گیری مقادیر G' در ناحیه ویسکوالاستیک خطی دریافتند حضور قطرات ریزتر فاز پراکنده روغن، موجب تقویت ویژگی‌های جامد الاستیک در مایونز می‌گردد، در حالیکه مایونز حاوی قطرات بزرگتر روغن، ویژگی‌های مایع مانند (ویسکوز) بیشتری بروز دادند. این نتیجه به‌طور تقریباً مشابه در نمونه‌های مایونز کم‌چربی این پژوهش مشاهده گردید.



شکل 5- تصاویر میکروسکوپی مایونزها (1) NFC100، (2) NFC50/CC50، (3) CC100، (4) COMMERCIAL CONTROL

علاوه بر اندازه ذرات، یکنواختی ذرات نیز عامل مهمی به‌شمار می‌آید. بدین صورت که ویسکوزیته امولسیون‌های غیر یکنواخت (پلی‌دیسپرس) به میزان زیادی کمتر از ویسکوزیته امولسیون‌های یکنواخت (مونودیسپرس) با همان نسبت حجمی می‌باشد Gutierrez (*et al.*, 2002). از اینرو نمونه حاوی 0/5% نانوفیبر سلولز - 0/5% کربوکسی‌متیل‌سلولز اگر چه کوچکترین اندازه ذرات را داشته ($p<0/05$) اما به دلیل اینکه میزان یکنواختی آن کمتر از نمونه شاهد تجاری بوده، طبق جدول (2) میزان ویسکوزیته ظاهری کمتری را نسبت به نمونه شاهد تجاری نشان داده است. بعد از نمونه NFC50/CC50 به‌ترتیب نمونه‌های شاهد تجاری و NFC100 دارای اندازه ذرات کوچکتری بودند اما از نظر میزان یکنواختی، نمونه شاهد تجاری از بالاترین میزان یکنواختی در میان نمونه‌ها برخوردار بوده و نمونه NFC100 در رتبه سوم قرار گرفت. از این‌رو اگرچه اندازه ذرات در نمونه شاهد تجاری افزایش یافته اما هنوز این نمونه در مقایسه با دو نمونه NFC100 و CC100، به عنوان نمونه مایونز با اندازه ذرات کوچک به حساب آمده که دارای بالاترین میزان یکنواختی در میان نمونه‌ها بوده است و توانسته بیشترین میزان ویسکوزیته ظاهری را به‌خود اختصاص دهد. نمونه حاوی 1%

کربوکسی‌متیل‌سلولز (CC100) نیز با داشتن بزرگترین و غیریکنواخت‌ترین اندازه ذرات، دارای کمترین میزان ویسکوزیته گردیده است. همچنین با توجه به وجود تفاوت معنادار میان نتایج توزیع اندازه ذرات نمونه حاوی کربوکسی‌متیل‌سلولز تنها و نمونه حاوی نانوفیبر سلولز- کربوکسی‌متیل‌سلولز، برقراری یک اینترکشن سینرژیستی میان دو هیدروکلوئید فوق نیز کاملاً مشهود می‌باشد. تصاویر تهیه شده از نمونه‌های مایونز با میکروسکوپ نوری در شکل (5) به همراه نتایج حاصل از آزمون توزیع اندازه ذرات می‌تواند در بررسی اندازه قطرات، مقدار یکنواختی آنها در امولسیون و تخمین میزان مدول الاستیک و ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها بسیار مفید باشد. بر اساس تصاویر میکروسکوپی شکل (5)، تمامی نمونه‌ها نسبت به نمونه حاوی 1% کربوکسی‌متیل‌سلولز در تصویر (3) دارای ساختار متراکم‌تر و نهایتاً G' بزرگتری بودند. طبق این نتایج می‌توان اظهار کرد که تجمعات متراکم قطرات روغن در شبکه امولسیونی مسئول ویژگی‌های الاستیک و مقاومت امولسیون در برابر تغییر شکل می‌باشد (Liu *et al*., 2007). همچنین تصاویر میکروسکوپی نمونه‌های مایونز کم‌چربی تاییدکننده نتایج آزمون اندازه ذرات بوده است. به‌طوریکه از مقایسه تصاویر می‌توان دریافت که تصویر (2) نشان‌دهنده کوچکترین اندازه ذرات در نمونه حاوی 0/5% نانوفیبر سلولز- 0/5% کربوکسی‌متیل‌سلولز بوده و بعد از آن اندازه ذرات به ترتیب در تصویر (4) مربوط به نمونه شاهد تجاری، تصویر (1) مربوط به نمونه 1% نانوفیبرسلولز و تصویر (3) مربوط به نمونه 1% کربوکسی‌متیل‌سلولز افزایش یافته است. همانطور که مشاهده می‌شود اندازه ذرات در تصاویر (1) و (3) نسبت به تصاویر (2) و (4) بزرگتر شده اما میزان یکنواختی ذرات در تصویر (1) به مقدار زیادی حفظ گردیده است. در حالیکه علاوه بر اندازه ذرات، میزان تفاوت در اندازه ذرات و غیریکنواختی آنها نیز در تصویر (3) به حداکثر خود رسیده و تاییدکننده کاهش میزان ویسکوزیته ظاهری در نمونه حاوی 1% کربوکسی‌متیل‌سلولز بوده است.

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج حاصله از آزمون‌ها و تفسیر آنها در بخش‌های پیشین، با افزودن نانوفیبر سلولز به همراه کربوکسی‌متیل‌سلولز، شاخص ویسکوزیته نزدیکترین مقدار را به نمونه شاهد تجاری نشان داده و فاکتور D[4,3] ذرات نسبت به نمونه شاهد تجاری برتری معناداری داشته است ($p<0/05$). تمامی ویژگی‌های رئولوژیکی مورد بررسی نیز در بهترین سطح بوده و تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد تجاری نشان ندادند ($p>0/05$). همچنین مدول الاستیک بر مدول ویسکوز ($G'>G''$) غالب بوده که بیانگر تقویت ویژگی‌های الاستیک در آن و مشابه روند در نمونه شاهد تجاری بوده است. با توجه به نتایج حاصله، نمونه NFC50/CC50 (حاوی 0/5% نانوفیبر سلولز– 0/5% کربوکسی‌متیل‌سلولز) به‌عنوان نمونه مایونز کم‌چربی برگزیده با ویژگی‌های رئولوژیکی و اندازه ذرات برتر در این پژوهش معرفی گردید.

منابع

Ahola, S., 2008, Properties and interfacial behavour of cellulose nanofibril. Doctora Thesis, Helsinki University of Technology, Espoo, *Finland*, 42-47.

Alimi, M., Mizani, M., Naderi, G., Mortazavian, A.M., Bameni Moghadam, M., 2013, Development of low-fat mayonnaise containing combined mixtures of different types of inulin. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11(1), 99-104.

Bogati, D. R., 2011, Cellulose Based Biochemicals and their applications. Bachelor's Thesis, Saimaa University of Applied Sciences, Imatra, *Finland*, 25-30.

Choonhahirun, A., 2008, Influence of added water and konjac flour as fat replacer on some quality characteristics of celery mayonnaise. *Journal of Assumption University of Thailand*, 11(3), 154-158.

Coffey, D. G., Bell, D. A., Henderson, A., 2006, Cellulose and Cellulose Derivatives, In: Stephen, A. M., Philips, G. O., Williams, P. A, ed, *The Food Polysaccharides and Their Applications*, 2th edn, CRC Press, Florida, 146-179.

Eronen, P., Junka, K., Haggblom, M., Laine, J., Osterberg, M., 2010, Polysaccharide interactions with nanocellulose as a platform for biomimetic modifications. In: Proceeding of International Conference on Nanotechnology for the Forest Products Industry, TAPPI Press, *Georgia*, 1099-1122.

Gutierrez, X., Siliva, F., Chirinos, M., Leiva, J., Rivas, H., 2002, Bitumen-in-water emulsion: an overview on formation, Stability and rheological properties. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 23, 405-418.

Izidoro, D. R., Scheer, A. P., Sierakowski, M. R., Haminiuk, C.W., 2008, Influence of green banana pulp on the rheological behaviour and chemical characteristics of emulsions (mayonnaises). *Journal of LWT-Food Science Technology*, 41, 1018-1028.

Kalashnikova, I., Bizot, H., Cathala, B., Capron, I., 2012, Modulation of cellulose nanocrystals amphiphilic properties to stabilize oil/water interface. *Journal of Biomacromolecules*, 13, 267-275.

Langton, M., Jordansson, E., Altskar, A., Sorensen, C., Hermansson, A., 1999, Microstructure and image analysis of

mayonnaises. *Journal of Food Hydrocolloids*, 13, 113-125.

Lavoine, N., Desloges, I., Dufresne, A., Bras, J., 2012, Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Journal of Carbohydrate Polymers*, 90, 735-764.

Liu, H., Xu, X. M., Guo, S. D., 2007, Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *Journal of LWT-Food Science Technology*, 40, 946-954.

Lorenzo, G., Zaritzky, N., Califano, A., 2008, Modeling rheological properties of low-in-fat o/w emulsions stabilized with xanthan/guar mixtures. *Journal of Food Research International*, 41, 487- 494.

Ma, L., Barbosa-Canovas, G.V, 1995, Rheological characterization of mayonnaise. Part II: Flow and viscoelastic properties at different oil and xanthan gum concentrations. *Journal of Food Engineering*, 25, 409-425.

Mancini, F., Montanari, L., Peressini, D., Fantozzi, P., 2002, Influence of alginate concentration and molecular weight on functional propertiesof mayonnaise. *Journal of Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, 35, 517–525.

McClements, D. J. 2005. Food Emulsions; Principles, Practice, and Techniques. 2th edn, CRC Press, Florida, 533-543.

McGinley, E. J., Venables, A. C., Krawczyk, G. R., 1997, A cellulose composition, its preparation, and its use in foods. W.O. *Patent* No. 1997045024 A1.

Mun, S., Kim, Y. L., Kang, C. G., Park, K. H., Shim, J. Y., Kim, Y. R., 2009, Development of reduced-fat mayonnaise using 4GTase-modified rice starch and xanthan gum. *Journal of Biomacromolecules*, 44, 400-407.

Nikzade, V., Tehrani, M. M., Saadatmand-Tarzjan, M., 2012, Optimization of low-cholesterol low fat mayonnaise formulation: Effect of using soy milk and some stabilizer by a mixture design approach. *Journal of Food Hydrocolloids*, 28, 344-352.

Paakko, M., Ankerfors, M., Kosonen, H., Nykanen, A., Ahola, S., Osterberg, M., Ruokolinen, J., Laine, J., Larsson, P. T., Ikkala, J., Lindstrom, T., 2007. Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Journal of Biomacromolecules*, 8(6), 1934–1941.

Quintana, J. M., Califano, A. N., Zaritzky, N. E., Partal, P., 2002, Effect of salt on the rheological properties of low-in-fat O/W emulsions stabilized with polysaccharides. *Journal of Food Science and Technology International*, 8(4), 213-221.

Rajah, K. K. 2002. Fats in Food Technology. Sheffield Academic Press, Sheffield, 256-260.

Su, H. P., Lien, C. P., Lee, T. A., Ho, R. S., 2010, Development of low- fat mayonnaise containing polysaccharide gums as functional ingredients. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 90, 806-812.

Thomareis, A. S., Chatziantoniou, A., 2011, Evaluation of the consistency of low-fat mayonnaise by squeezing flow viscometry. *Journal of Procedia Food Science*, 1, 1997-2002.

Winuprasith, T., Suphantharika, M., 2015, Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by microfibrillated cellulose from mangosteen rind. *Journal of Food Hydrocolloids*, 43, 690-699.

Worrasinchai, S., Suphantharika, M., Pinjai, S., Jamnong, P., 2006, -Glucan prepared from spent brewer´s yeast as a fat replacer in mayonnaise. *Journal of Food Hydrocolloids*, 20, 68-78.

Yousefi, H., Nishino, T., Faezipour, M., Ebrahimi, G. H., Shakeri, A., 2011, Direct fabrication of all-cellulose nanocomposite from cellulose microfibers using ionic liquid-based nanowelding. *Journal of Biomacromolecules*, 12, 4080-4085.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 446-457

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 457-446

Evaluation of the effect of nanofiber cellulose and carboxy methyl cellulose on rheological properties and particle size of low-fat mayonnaise

L. Golchoobi[1], M. Alimi*[2], H. Yousefi[3]

Received: 2015.10.12
Accepted: 2016.02.15

Introduction: Mayonnaise, a semisolid oil in water emulsion containing vegetable oil, vinegar, egg yolk and optional ingredients such as salt, sugar and mustard, is a conventional old condiment containing high fat ingredient (minimum of 65%). The need to reduce the amount of saturated fat in diets, has led to the development of alternative processes to produce law fat mayonnaise. Cellulose and its physically-treated derivatives i.e. microcrystalline cellulose (MCC) and microfibrillated cellulose (MFC) lately investigated as NFC is one of the conventional fat replacers used in low-fat products formulation such as mayonnaise. Nanofiber cellulose (NFC) is a glucose polymer connecting together by β (1-4) glycosidic bonds. This low-cost new kind of cellulose can be obtained from physical modification of cellulose as naturally occurring carbohydrate that is renewable, biodegradable and nontoxic. Increased specific surface area, enhanced mechanical and hydrophilic properties of nanoscale cellulose are affected by the number of hydrogen bond in nanofiber chain of cellulose and low concentration of NFC suspension can form a stront and viscous semi-gel network. As a result, because of all the functional properties, NFC can be employed as a fat replacer in reduced or low calorie food products, and as an improver of the product structure consistency. In fact, because of downsizing cellulose to nanoscale, the surface to volume ratio of NFC increases and the surface hydroxyl groups participate in the formation of hydrogen bonds in the network. Hence, more appropriate mechanical properties for NFC are achieved, even in a lower dosage. Therefore, NFC is theoretically a proper thickener and stabilizer for low-fat systems. Carboxy methyl cellulose (CMC) is a synthesized derivate of cellulose which is gained by adding carboxy methyl groups (- CH2- COOH) to cellulose. CMC is used in different food systems with the E number E466 as emulsions stabilizer, control and modification of texture in various products. In this research, application of combination of nanofiber cellulose (0%-1%) and CMC (0%-1%) to optimize rheological properties and production of low-fat mayonnaise (30% oil) with desirable characteristics were studied. Due to the hydrophilic nature of cellulose derivatives, several research works have been focused on the stabilization of oil-in-water (o/w) emulsions specially salad dressing or low-fat and fat free mayonnaise by NFC. However, no information is available on NFC/CMC mixtures. The main aim of this study was to investigate the possible mutual interactions between NFC and CMC in mayonnaise formulation regarding to the nutritional benefits that each can be individually contribute to low-fat healthy products. Rheological characterization and particle size of low fat mayonnaise, containing NFC and CMC, were conducted to validate the practical applicability of the proposed formulation in food industry.

Materials and methods: The nanofiber cellulose of each formulation (0.25, 0.5, 0.75 and 1%) was first mixed with the related formulation water and pasteurized using a EUROSTAR power control-visc 6000 homogenizer for 5 min inside water bath at 85°C. Then, it was added to the raw materials of its treatment. After production of 5 samples, viscosity test was performed using a rotational viscometer. Then, particle size measurement (D[4,3] with distilled water as the solvent, a Mastersizer 2000 equipped to quartz cell and laser beam with λ= 634 nm), light microscopy (optical microscope, magnification of 100×) and rheological tests such as flow behavior (shear rate: 0.01-200 1/s), complex viscosity and frequency sweep (frequency: 0.01-100 Hz) were performed on 3 selected samples (stress-controlled rheometer with a serrated parallel-plate geometry). Commercial low fat mayonnaise (30% fat) produced by Behrouz factory was selected as the control sample.

1 And 2. M. Sc. Graduate and Assistant Professor, Food Science and Technology, Science and Research Ayatoolah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Wood Engineering and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
(*Corresponding Author Email: Ahooora_mazdak@yahoo.com)

Results & discussion: Overall, the viscosity results revealed that by the addition of NFC and CMC, only the sample containing 0.5% nanofiber cellulose and 0.5% CMC did not show significant difference compared to the commercial control sample ($p<0.05$). The results of flow behavior test of low-fat mayonnaise samples show a non-newtonian and pseudoplastic behavior in all samples. The obtained results of data fitting with Herschel-Buckley model indicated that the addition of NFC together with CMC did not significantly alter the flow behavior index, consistency coefficient and yield stress. Moreover, in frequency sweep test for selected samples containing NFC and CMC, the trend of changes in elastic modulus were higher than viscose modulus ($G'>G''$) that has revealed the predominating of the elastic features in the mentioned samples, similar to the trend of commercial control sample. The obtained data of complex viscosity was in consistency with this data. With respect to the obtained results of particle size distribution, the sample containing 0.5% nanofiber cellulose and 0.5% CMC were considered to have the minimum value of D[4,3] and desirable uniformity in comparison with other samples.

Conclusion: Considering the aforementioned results, in this study NFC50/CC50 sample containing 0.5% nanofiber cellulose and 0.5% CMC was employed to formulate low-fat mayonnaise with interesting particle size and rheological properties that is attributed to the synergistic interaction between 0.5% NFC and 0.5% CMC. In fact, the effect of fat reduction is balanced by replacing of 0.5% nanofiber cellulose and 0.5% CMC. Therefore, these hydrocolloids generated a robust gel-structure in the network of this sample. In addition, tridimensional gel structure was formed by physical entanglements among polymeric chains along with the development of the crosslinked network formed between both hydrocolloids. On the other hand, reduction of dispersion phase size and suitable uniformity of droplets in NFC50/CC50 sample resulted in appropriate monodispersity, which increases the resistance to deformation and the enhancement of its viscosity.

Keywords: Nanofiber cellulose, Carboxy methyl cellulose, Low-fat mayonnaise, Rheological properties, Particle size.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 458-468

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 468-458

تاثیرجایگزینی فیبر پرتقال با روغن و تخم مرغ بر خصوصیات فیزیکو شیمیایی و ارگانولپتیک مافین

زهرا نجفی[1]- سارا موحد[2*]- حسین احمدی چناربن[3]

تاریخ دریافت: 1394/07/25
تاریخ پذیرش: 1395/03/16

چکیده

در تحقیق حاضر کاربرد فیبر پرتقال به‌منظور بهبود ساختار و خواص تغذیه‌ای کیک مافین با فرمولاسیونی جدید مورد مطالعه قرار گرفت. در این راستا از فیبر پرتقال در سه سطح (0/5، 1 و 2 درصد) ، با کاهش 25 درصدی روغن و تخم مرغ، در فرآیند تولید کیک مافین استفاده شد. با توجه به نتایج بیشترین میزان ویسکوزیته و دانسیته به ترتیب به تیمار حاوی 2 درصد فیبر پرتقال و شاهد (فاقد فیبر پرتقال) تعلق داشت. بیشترین درصد رطوبت، خاکستر و فیبر برای تیمار حاوی 2 درصد فیبر پرتقال و کمترین آن‌ها برای تیمار شاهد به‌دست آمد. همچنین بیشترین مقدار pH در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار حاوی 2 درصد فیبر پرتقال مشاهده گردید. همچنین با توجه به نتایج آزمون بیاتی به هر دو روش حسی و دستگاهی و در فواصل زمانی 24، 48 و 72 ساعت پس از پخت و در تمامی بازه های زمانی، تیمار حاوی 2 درصد فیبر پرتقال از بالاترین امتیاز تازگی و تیمارهای حاوی 1 درصد فیبر پرتقال ، 0/5 درصد فیبر پرتقال و شاهد به‌ترتیب از کمترین امتیاز برخوردار بودند. قابل توجه این‌که نمونه‌ی شاهد در کلیه زمان‌ها بیشترین میزان بیاتی را دارا بود. از سوی دیگر با توجه به نتایج ارزیابی حسی، تیمار حاوی 0/5 درصد فیبر پرتقال به‌عنوان بهترین تیمار معرفی گردید و دارای بیشترین امتیاز و بالاترین سطح پذیرش از نظر مصرف‌کنندگان بود.

واژه های کلیدی: کیک، مافین، فیبر پرتقال، تخم‌مرغ.

مقدمه

کیک یکی از فرآورده‌های مهم و پر مصرف غلات و محصولی از آرد گندم می‌باشد. کیک که جزء فرآورده‌های قنادی محسوب می‌شود، دارای انواع مختلف و با کالری متفاوت بوده که معمولاً کالری زیاد موجود در انواع این محصولات به روغن، تخم‌مرغ و شکر موجود در فرمولاسیون آنها نسبت داده می‌شود (Pabon *et al.*,1992). در حال حاضر تقاضا برای مصرف غذاهای کم‌چرب و کم کلسترول رو به افزایش است لذا به‌نظر می‌رسد حذف نسبی یا کامل روغن وتخم‌مرغ و جایگزین شدن آن با سایر مواد در فرمولاسیون کیک از اهمیت خاصی برخوردار است (Movahhed *et al.*, 2012). در سال‌های اخیر استفاده از فیبر رژیمی منابع مختلف در محصولات غذایی به دلیل اثرات مفید آن بر سلامتی افراد رو به افزایش است. در میان محصولات کشاورزی، پسماندهای حاصل از فرآوری پرتقال، غنی از فیبر می‌باشدکه می‌تواند به‌عنوان فیبر خوراکی در صنایع غذایی استفاده شود. فیبر یک واژه عمومی از انواع مختلف کربوهیدرات‌هاست که از دیواره سلولی گیاهان بدست آمده و به‌وسیله آنزیم‌های هضم‌کننده موجود در بدن انسان تجزیه نمی‌شود. فرموله کردن مواد غذایی با فیبر مرکبات بسیار مفید می‌باشد زیرا انواع ترکیبات فیبری در پوست مرکبات با pHهای خنثی وجود دارد که این ویژگی سبب کاربرد گسترده آن در انواع مواد غذایی می‌شود. ازسویی این نوع فیبرها از لحاظ عطر و طعم، طبیعی و غیرحساسیت‌زا می‌باشند. از مزایای دیگرآنها این است که موجب بهبود عملکرد پخت، افزایش ظرفیت اتصال آب، جذب روغن وبهبود بافت نهایی محصول با صرف هزینه کمتر می‌گردند (Lundberg, 2005). Mirmajidi (1998) بیان داشت که ویژگی جذب آب بالای سبوس برنج در حفظ رطوبت نان به‌عنوان منبعی از فیبر رژیمی، افزایش نگهداری هوا و در نهایت بهبود ور آمدن خمیرهای تولیدی موثر بوده است. Abdul-Hamid و همکاران (2000) بیان داشتند که رنگ مغز نان‌های حاوی منبع فیبری سبوس برنج در مقایسه با نمونه شاهد، تیره‌تر و میزان پذیرش آن‌ها کمتر است هر چند میزان قابلیت جویده شدن و نرمی نان‌های

1 و 2- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاداسلامی، ورامین، ایران.
3- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاداسلامی، ورامین، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: movahed@iauvaramin.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.50478

مذکور در سطح قابل قبول بود. Masoodi و همکاران (2002) استفاده از تفاله سیب را به‌عنوان منبع فیبر رژیمی در کیک بررسی کردند. با توجه به نتایج، ویسکوزیته خمیر با افزایش میزان تفاله سیب و کاهش اندازه ذرات افزایش ولی میزان وزن مخصوص و pH کاهش یافت. همچنین وزن کیک، میزان چروکیدگی و اندیس یکنواختی، با افزایش میزان تفاله افزایش یافت در حالی که حجم کیک و تقارن کاهش نشان داد. Gomez و همکاران(2005) عنوان نمودند که به‌کارگیری صمغ‌های کربوکسی‌متیل‌سلولز،گوار و آلژینات (به‌عنوان منابع غنی از فیبر) در فرمولاسیون کیک، باعث بهبود حجم، افزایش ویسکوزیته و تاخیر در بیاتی کیک می‌شود. Lundberg (2005) به بررسی جایگزینی 50 درصد روغن مافین با مخلوط فیبر پرتقال و آب پرداخت. با توجه به نتایج، با کاهش مصرف روغن، هزینه تولید کاهش یافت ضمن آن که مافین‌های تولیدی ازلحاظ حجم، بافت، طعم و مزه، بسیار مشابه انواع پرچرب (شاهد) آن بودند. همچنین این محقق جایگزینی فیبر پرتقال با تخم‌مرغ مصرفی در کیک لایه‌ای را مورد بررسی قرار داد. او 20 درصد از تخم‌مرغ را با 0/4درصد فیبر و 13 قسمت آب اضافی جایگزین کرد.ویژگی‌های خوراکی همچنان خوشمزه باقی ماند و مدت زمان ماندگاری تقریباً 2 برابر شد. Movahhed و همکاران (2012) به بررسی ویژگی‌های کیک‌های بدون گلوتن حاوی صمغ کربوکسی‌متیل‌سلولز (نوعی منبع فیبری محلول در آب) در سطوح 0/25و0/75درصد پرداختند. افزودن صمغ مذکور در هر دو سطح، سبب بهبود ویژگی‌های حسی و تأخیر در میزان بیاتی نمونه‌ها نسبت به نمونه‌ی شاهد(فاقد صمغ)گردید. Movahhed و همکاران (2012) اثر افزودن صمغ‌های زانتان و هیدروکسی پروپیل‌متیل سلولز (به‌عنوان یک فیبر محلول) را بر ویژگی‌های حسی و بیاتی کیک‌های اسفنجی بدون تخم‌مرغ مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌های کیک نشان داد که افزودن صمغ و امولسیون‌کننده‌ها به جای تخم‌مرغ موجب بهبود اکثر ویژگی‌های حسی از جمله تناسب شکل، تخلخل، عطر و بو، طعم و قابلیت جویدن وکاهش روند بیاتی در مقابل نمونه‌ی شاهد می‌گردد. Movahhed و همکاران (2014) تحقیقی درباره‌ی تاثیر افزودن آرد برنج قهوه‌ای به‌عنوان یک منبع فیبری غلات به همراه امولسیفایر منو و دی گلیسیرید بر ویژگی‌های کیفی نان سنگک انجام دادند. براساس نتایج، بیشترین مقدار حجم نان برای تیمار شاهد و کمترین آن برای تیمار دارای 5 درصد آرد برنج قهوه‌ای و0/5 درصد امولسیفایر منو و دی گلیسیرید به‌دست آمد. همچنین در ارزیابی ویژگی‌های ارگانولپتیکی، به جز در صفات قابلیت جویدن، بو، طعم و مزه، سایر تیمارها نسبت به شاهد مطلوب‌تر بودند. با توجه به موارد مطرح شده، فیبرها با منشاء غلات به دفعات در صنایع پخت استفاده شده‌اند درحالی که فیبرهای حاصل از میوه‌جات که از کیفیت مطلوب‌تری به لحاظ محلولیت، ظرفیت بالای نگهداری آب، قابلیت بالای تخمیر روده‌ای و از سوی دیگر از میزان اسید فیتیک کمتر برخوردارند، کمتر مورد استفاده قرار گرفته‌اند. همچنین نظر به وجود مقادیر زیاد کلسترول و اسیدهای چرب اشباع در تخم‌مرغ و نیز خطرات ناشی از مصرف روزمره روغن‌ها در رژیم غذایی، مطالعه در مورد حذف نسبی روغن و تخم‌مرغ از محصولات غذایی ضروری است لذا توسعه فرآیندهای غذایی که منجر به استفاده از فیبرهای میوه‌ای می‌شوند، قابل توجه می‌باشد. در این راستا در تحقیق حاضر جایگزینی بخشی از روغن و تخم‌مرغ مصرفی در کیک مافین با فیبر پرتقال مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته‌است.

مواد وروش‌ها

در این پژوهش مواد اولیه شامل آرد نول از شرکت آرد داران، شکر از شرکت قند کرج، روغن مایع از شرکت لادن، تخم‌مرغ از شرکت تلاونگ، شیر خشک از شرکت پگاه، نمک طعام از شرکت گلها، وانیل از شرکت ردیا، بیکینگ پودر از شرکت هرمین و نیز فیبر پرتقال (رنگ: زرد روشن، کالری: 227cal/100g ، چربی‌کل: ٪1، کربوهیدرات: ٪ 55، فیبر محلول: ٪ 35، فیبر نامحلول: ٪ 35، رطوبت: ٪ 6/38 و خاکستر: ٪ 2/46) مورد نظر از شرکت ID Foodفرانسه تهیه گردیدند. در کلیه آزمون‌ها ، تیمار شاهد با کد T،تیمار حاوی 0/5درصد فیبر پرتقال با کد T_1،تیمار حاوی 1درصد فیبر پرتقال با کد T_2و تیمار حاوی 2درصد فیبر پرتقال با کد T_3مشخص شدند.کلیه تیمارها با کاهش 25 درصد از روغن و 25 درصد از تخم‌مرغ مصرفی و جایگزینی آب در کیک مافین همراه بودند.

آزمون‌های شیمیایی نمونه آرد و کیک مافین

در این تحقیق آزمون های شیمیایی به‌عمل آمده بر روی آرد گندم و نمونه‌های کیک مافین تولید شده شامل رطوبت (استانداردAACC، شماره 16-44)، خاکستر (استانداردAACC، شماره 01-08)، pH (استاندارد AACC، شماره 52-2)، فیبر (استاندارد AACC، شماره 10-32) بودند(Anonymous, 2003).

روش تهیه مافین تولید شده با فیبر پرتقال

به‌منظور تولید کیک ابتدا مواد اولیه شامل آرد نول، شکر، روغن مایع، تخم‌مرغ، شیر خشک، نمک طعام، وانیل، بیکینگ پودرو نیز فیبر پرتقال تهیه و توزین گردیدند. برای تهیه خمیر از روش مخلوط کردن دو مرحله‌ای استفاده گردید. در این روش در مرحله اول، کلیه مواد جامد به‌همراه فیبر پرتقال مورد نظر در مخلوط‌کن ریخته شدند و با سرعت کم حدود نیم دقیقه مخلوط گردیدند و بعد در حال حرکت،

کم‌کم مقداری آب، به مخلوط اضافه شد تا خمیر شکل گرفت. در مرحله‌ی دوم، سرعت افزایش یافت و باقیمانده‌ی آب، روغن و تخم‌مرغ طبق فرمولاسیون به ظرف مخلوط‌کن اضافه گردید و تا 90 ثانیه با دور متوسط همزده شد. سپس طبق استانداردهای تعریف شده در شرکت شیرین شهد پارسیان، معادل 120 گرم از مخلوط حاصل در هر یک از کپسول‌های کاغذی مافین ریخته شد آن‌گاه نمونه‌ها در سینی فر قفسه‌ای با سیستم چرخش مرکزی در دمای 180 درجه سلسیوس به مدت 30 دقیقه قرارگرفتند. پس از اتمام زمان مورد نظر، سینی از درون فر خارج شد و پس از خنک شدن در دمای اتاق به مدت یک ساعت، مورد ارزیابی قرار گرفتند (Movahhed *et al*., 2012).

آزمون‌های خمیر مافین

در این تحقیق، آزمون‌های ویسکوزیته و دانسیته بر روی خمیر کیک شاهد و خمیر تیمارهای حاوی فیبر پرتقال صورت گرفت.

آزمون ویسکوزیته

جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته خمیر کیک، دستگاه ویسکومتر بروکفیلد مورد استفاده قرار گرفت. اسپیندل مورد استفاده دراین آزمون، اسپیندل شماره 64 در سرعت 1rpm بود. ویسکوزیته خمیر در مدت زمان 30 ثانیه و برحسب سانتی‌پوآز گزارش شد(Gomez *et al*., 2005).

آزمون دانسیته

از تقسیم وزن حجم مشخصی از خمیر کیک بر وزن همان حجم آب، در دمای ثابت محاسبه شد (Gomez *et al*., 2005).

آزمون بیاتی به روش دستگاهی

در این روش از دستگاه بافت‌سنج یا اینستران استفاده شد و طبق استاندارد AACC شماره 9-74 عمل گردید. این آزمون در فاصله زمانی 24، 48 و 72 ساعت پس از پخت نمونه‌ها انجام گرفت. میزان نیروی فشاری وارد شده به نمونه‌ها برحسب نیوتن گزارش شد به‌طوری که بیشترین نیروی وارد شده به نمونه‌ها دلالت بر سفتی بیشتر نمونه‌ها داشت (Anonymous, 2003)

ارزیابی بیاتی کیک‌ها به روش حسی

در تعیین میزان بیاتی(کاهش تازگی) نمونه‌های کیک مافین به روش حسی از استاندارد AACC، شماره 30-74 استفاده گردید. این آزمون در فاصله زمانی 24، 48 و 72 ساعت پس از پخت نمونه‌ها انجام شد. ابتدا نمونه‌ها به‌طور جداگانه داخل کیسه‌های پلاستیکی در دمای محیط در کنار یکدیگر قرار داده شدند و پس از کدگذاری جهت ارزیابی به داوران حسی (پانلیست‌ها) داده شدند و آنان بر اساس فرم مربوطه به نمونه‌های کیک امتیاز دادند (Anonymous, 2003).

ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های کیک

به‌منظور ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های کیک، از تجزیه و تحلیل خصوصیات کیک با کاربرد حواس پنجگانه و مقیاس هدونیک پنج نقطه‌ای استفاده گردید. ملاک عمل، نظر و تمایل شخصی افراد متخصص و آموزش دیده نسبت به محصول بود. در این تحقیق، نمونه‌ها پس از خنک شدن و برش، کدگذاری گردیدند و توسط تعدادی از ارزیاب‌های آموزش دیده مورد بررسی قرار گرفتند. ارزیابی در روز اول پخت، بر اساس ویژگی‌های خارجی و بافت داخلی کیک بود که هر یک بنابراهمیت، دارای امتیاز خاصی بودند. در این راستا حجم (حداکثر 17امتیاز)، ترک (حداکثر 16 امتیاز)، بافت (حداکثر 15 امتیاز)، قابلیت جویدن (حداکثر 14امتیاز)، عطر و طعم (حداکثر 11 امتیاز)، یکنواختی حفره‌ها در مغز کیک (حداکثر 12 امتیاز)، رنگ مغز کیک (حداکثر 7 امتیاز) و رنگ پوسته خارجی (حداکثر 7 امتیاز) را به خود اختصاص داده بودند (Rajabzadeh, 1996). داوران حسی (پانلیست‌ها) امتیاز مشخصی را نسبت به حداکثر امتیاز که در فرم‌های ارزشیابی مشخص شده بود برای نمونه‌های کیک در نظرگرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و حسی از طرح کاملاً تصادفی و داده‌های حاصل از آزمون بیاتی از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار استفاده شد (متغیرهای مستقل شامل زمان در سه سطح، 24، 48 و 72 ساعت پس از پخت و مقادیر مختلف از فیبر پرتقال در سه سطح، 0/5، 1 و 2 درصد فیبر نسبت به وزن پودر مافین بودند) و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال α =%1 و توسط نرم‌افزار SPSS نسخه 16 صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج آزمون‌های شیمیایی، آرد گندم نول مصرفی با 1/05 درصد فیبر، 0/5 درصد خاکستر کل، 14/1 درصد رطوبت، و pH معادل6، جهت تولید کیک مناسب تشخیص داده‌شد.

نتایج حاصل از آزمون ویسکوزیته خمیر کیک مافین

با توجه به جدول 1، تفاوت معنی‌دار بین کلیه تیمارها مشاهده گردید به‌طوری که تیمار T3 و سپس T2 و T1 از بیشترین و تیمارT (شاهد) از کمترین میزان ویسکوزیته خمیر برخوردار بودند ($P\leq0.01$).

جدول 1- نتایج مقایسه میانگین آزمون ویسکوزیته خمیر کیک‌های مافین تولید شده

تیمار / ویژگی	ویسکوزیته(cp)
T	19500 ± 27d
T1	20300 ± 44c
T2	29500 ± 50b
T3	49300 ± 50a

در هر ستون وجود حرف مشترک، بر طبق آزمون دانکن، عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را در سطح احتمال 1 درصد نشان می‌دهد.

T: تیمار شاهد، T1: تیمار حاوی 0/5درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین، T2: تیمار حاوی 1درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین T3: تیمار حاوی 2درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین

روند افزایشی مشاهده شده در تیمارهای مذکور، مربوط به افزایش میزان فیبر می‌باشد به‌گونه‌ای که با افزایش میزان فیبر، درصد جذب آب خمیر بیشتر اما میزان آب آزاد کاهش یافت در نتیجه ویسکوزیته خمیر با افزایش رو به رو شد. در میوه جات، دیواره سلولی بخشی مهم محسوب می‌شود و ویژگی اتصال با مولکول‌های آب در فیبرهای میوه باعث بهبود رفتارهای رئولوژیکی در مواد غذایی می‌گردد. به‌طورکلی ویژگی کلیدی فیبرمرکبات، خاصیت هیدراته شدن یا جذب آب آن می‌باشد. جذب آب توسط فیبر میوه، توانایی رشد و متورم شدن، بالا بردن ویسکوزیته وجلوگیری از سینرزیس را توجیه می‌کند (Waldron *et al.*, 2003).

نتایج حاصل از آزمون دانسیته خمیر کیک مافین تولیدی

با توجه به جدول 2، تفاوت معنی‌دار بین کلیه تیمارها مشاهده شد به‌طوری که تیمار T (نمونه شاهد) دارای بیشترین و تیمارهای T3 و سپس T2 و T1 دارای کمترین میزان دانسیته بودند ($P\leq0.01$).

جدول 2- نتایج مقایسه میانگین آزمون دانسیته خمیر کیک‌های مافین تولید شده

تیمار / ویژگی	دانسیته(g/cm^3)
T	1/214 ± 0/001a
T1	1/117 ± 0/002b
T2	1/112 ± 0/001c
T3	1/104 ± 0/003d

در هر ستون وجود حرف مشترک، بر طبق آزمون دانکن، عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمار ها را در سطح احتمال 1 درصد نشان می‌دهد.

T: تیمار شاهد، T1: تیمار حاوی 0/5درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین، T2: تیمار حاوی 1درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین T3: تیمار حاوی 2درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین

چنین به‌نظر می‌رسد که به دام افتادن حباب‌های هوا در خمیر کیک‌های حاوی فیبر، در افزایش ویسکوزیته، افزایش قوام خمیر و کاهش دانسیته خمیرهای مذکور موثر بوده است. Masoodi و همکاران (2002) در تحقیقات خود عنوان نمودند که افزودن تفاله سیب به‌عنوان منبع فیبر رژیمی به کیک سبب کاهش دانسیته خمیر آن می‌گردد (Masoodi *et al.*, 2002).

نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی نمونه‌های کیک مافین

نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی انجام شده روی نمونه‌های کیک مافین در جدول 3 ارایه شده است.

جدول 3- نتایج مقایسه میانگین میزان رطوبت، خاکستر، فیبر و pH کیک‌های مافین

تیمار/ ویژگی	رطوبت ٪	خاکستر ٪	فیبر ٪	pH
T	22/64 ±0/18d	0/98 ± 0/002c	0/31 ± 0/001d	7/39 ± 0/001a
T1	24/16 ± 0/15c	0/99 ± 0/001c	0/49 ± 0/001c	7/04 ± 0/002b
T2	24/82 ± 0/14b	1/02 ± 0/003b	0/65 ± 0/002b	6/83 ± 0/003c
T3	25/33 ± 0/1a	1/05 ± 0/002a	1/01 ± 0/002a	6/69 ± 0/001d

در هر ستون وجود حرف مشترک، بر طبق آزمون دانکن، عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را در سطح احتمال 1 درصد نشان می‌دهد.

T: تیمار شاهد، T1: تیمار حاوی 0/5درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین، T2: تیمار حاوی 1درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین T3: تیمار حاوی 2درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین

تاثیر افزودن سطوح مختلف فیبر پرتقال بر درصد رطوبت نمونه‌های کیک مافین

با توجه به جدول 3، تفاوت معنی‌دار بین کلیه تیمارها مشاهده شد به‌طوری که تیمار T3 سپس T2 و T1 دارای بیشترین و تیمار T (نمونه شاهد) دارای کمترین میزان رطوبت بودند($P\leq0.01$). در حقیقت استفاده از فیبر پرتقال، در افزایش درصد رطوبت و جذب آب نمونه‌های کیک مافین تا ثیر بسزایی داشت. قابل توجه این که فیبر مرکبات میزان آب در دسترس را محدود می‌کند در نتیجه جدایی آب در بافت کمتر می‌شود این خاصیت به وجود پیوندهای هیدروکسیل در ساختمان فیبرها مربوط می‌گردد. هم چنین فیبر مرکبات نه تنها ظرفیت نگهداری آب بالایی دارد بلکه آب را بسیار محکم باند می‌کند.

این قابلیت یک مزیت مهم محسوب می‌شود زیرا می‌تواند آب را هنگام پخت حفظ نماید (Lundberg, 2005).

تاثیر افزودن سطوح مختلف فیبر پرتقال بر درصد خاکستر نمونه‌های کیک مافین

با توجه به جدول 3، تیمار T3 سپس T2 و T1 از بیشترین و تیمار T (نمونه شاهد) از کمترین میزان خاکستر برخوردار بودند($P\leq0.01$). در واقع استفاده از فیبرپرتقال، در افزایش خاکستر نمونه‌های کیک مافین تاثیر بسزایی داشت زیرا این فیبر دارای مقادیر زیادی فیبر نامحلول(معادل 50 درصد از کل فیبر تغذیه‌ای) و املاح غیرمحلول (نظیر آهن، کلسیم، منیزیم، پتاسیم، سدیم و روی) می‌باشد که این ترکیبات در افزایش خاکستر کیک مافین تولیدی بسیار موثر هستند (Lundberg, 2005). نتایج تحقیقات حاضر بانتایج تحقیقات Turabiو همکاران (2010) مطابقت داشت که اعلام نمودند افزودن تفاله‌های پرتقال غنی از فیبر به کیک، در افزایش میزان خاکستر محصول تاثیرگذار است (Turabi *et al.*, 2010).

تاثیر افزودن سطوح مختلف فیبر پرتقال بر درصد فیبر نمونه‌های کیک مافین

طبق جدول 3 ، تیمار T3 سپس T2 و T1 دارای بیشترین و تیمار T (نمونه شاهد) دارای کمترین میزان فیبر خام بودند ($P\leq0.01$). در حقیقت استفاده از فیبر پرتقال، در افزایش میزان فیبر خام در نمونه‌های کیک مافین تاثیر بسزایی داشت و با افزایش درصد فیبر در تیمارها، میزان فیبر خام کلیه نمونه‌های مافین افزایش یافت. دلیل این افزایش وجود حدود 70 درصد فیبر تغذیه‌ای، نظیر فیبرهای محلول و نامحلول می‌باشد (Lundberg, 2005).

تاثیر افزودن سطوح مختلف فیبر پرتقال بر pH نمونه‌های کیک مافین

بر اساس جدول 3، تیمار T3 سپس T2 و T1 دارای کمترین و تیمار T (نمونه شاهد) دارای بیشترین میزان pH بودند ($P\leq0.01$). اینگونه به‌نظر می‌رسد که کاهش pH به دلیل کاهش مصرف تخم‌مرغ در تیمارهای حاوی فیبر پرتقال باشد. علی‌رغم این که کاهش pH در کیک‌های مافین تولیدی را به دلیل ماهیت تقریبا خنثی این فیبرها نمی‌توان نسبت داد اما استفاده از فیبر پرتقال به دلیل جذب آب بیشتر و تاثیر بر میزان تحرک یون‌های هیدروژن، در کاهش میزان pH نمونه‌های کیک بسیار موثر بوده است (Lundberg, 2005). Masoodi و همکاران (2002) در تحقیقات خود نشان دادند که افزودن تفاله سیب به‌عنوان منبع فیبر رژیمی به کیک، سبب کاهش pH محصول می‌شود (Masoodi *et al.*, 2002).

ارزیابی میزان بیاتی نمونه‌های کیک مافین به روش دستگاهی

با توجه به جدول 4، به‌ترتیب در کلیه زمان‌ها، 24، 48 و 72 ساعت پس از تولید، برای تیمار T3، سپس T2 و T1 کمترین و برای تیمار T (نمونه شاهد) بیشترین میزان نیروی وارده توسط دستگاه بافت‌سنج ثبت گردید که این امر نشان‌دهنده روند افزایشی میزان بیاتی در 3 روز متوالی و در تمامی تیمارها بود.

جدول 4- نتایج مقایسه میانگین تاثیرمتقابل تیمار× زمان بر میزان بیاتی کیک‌های مافین به روش دستگاهی

زمان / تیمار	T	T1	T2	T3
24 ساعت	3/68 ± 0/001c	3/09 ± 0/002e	2/58 ± 0/002g	2/17 ± 0/001i
48 ساعت	4/30 ± 0/001b	3/51 ± 0/003c	2/93 ± 0/003ef	2/47 ± 0/001h
72 ساعت	5/42 ± 0/002a	4/17 ± 0/002d	3/31 ± 0/002cd	2/79 ± 0/001f

وجود حرف مشترک طبق آزمون دانکن، عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را در سطح احتمال 1 درصد نشان می‌دهد.

T: تیمار شاهد، T1: تیمار حاوی 0/5درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین، T2: تیمار حاوی 1درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین T3: تیمار حاوی 2درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین

بر اساس نتایج، بیشترین میزان بیاتی به تیمار شاهد و 72 ساعت پس از تولید و کمترین میزان بیاتی به تیمار T3 و 24 ساعت پس از تولید کیک تعلق داشت ($P\leq0.01$). در بیان علت نتیجه حاصل باید گفت فیبر مرکبات میزان آب در دسترس را محدود می‌کند در نتیجه جدایی آب در بافت کمتر اتفاق می‌افتد این خاصیت به وجود پیوندهای هیدروکسیل در ساختمان فیبرها مربوط می‌شود. از سوی دیگر فیبر مرکبات نه تنها ظرفیت نگهداری آب بالایی دارد بلکه آب را هم بسیار محکم باند می‌کند و از خشک شدن بافت طی گذشت زمان جلوگیری می‌نماید. هرچند که به مرور زمان شیب رطوبتی ایجاد شده بین محیط اطراف و بافت کیک سبب جدایی رطوبت از بافت کیک گردیده و با کاهش رطوبت بافت، میزان بیاتی افزایش می‌یابد(Lundberg, 2005). نتایج تحقیقات حاضر با تحقیقات Sayed و همکاران (2013) نیز مطابقت داشت که اعلام نمودند افزودن پوست هندوانه و خربزه به‌عنوان منابع طبیعی فیبر و جایگزینی

آن‌ها با 10 درصد روغن مصرفی در کیک‌های تولیدی، سبب کاهش قابل توجه روند بیاتی می‌گردد (Sayed *et al*., 2013).

ارزیابی میزان بیاتی نمونه‌های کیک مافین به روش حسی

با توجه به جدول5، درکلیه زمان‌ها، 24، 48 و 72 ساعت پس از تولید ، تیمار T3، سپس T2 و T1 دارای کمترین و تیمار T (نمونه شاهد) دارای بیشترین میزان بیاتی از دیدگاه پانلیست‌ها بودند (P≤0.01).

جدول 5- نتایج مقایسه میانگین تاثیرمتقابل تیمار× زمان بر میزان بیاتی کیک‌های مافین به روش حسی

زمان / تیمار	T	T1	T2	T3
24 ساعت	3/92 ± 0/002de	4/71 ± 0/002b	4/85 ± 0/002ab	5/07 ± 0/003a
48 ساعت	3/21 ± 0/001f	4 ± 0/002d	4/07 ± 0/003cd	4/28 ± 0/001c
72 ساعت	2/5 ± 0/001g	3/07 ± 0/003f	3/21 ± 0/001f	3/78 ± 0/001e

وجود حرف مشترک طبق آزمون دانکن، عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را در سطح احتمال 1 درصد نشان می‌دهد.

T: تیمار شاهد، T1: تیمار حاوی 0/5درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین، T2: تیمار حاوی 1درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین T3: تیمار حاوی 2درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین

این امر نشان‌دهنده روند افزایشی میزان بیاتی در 3 روز متوالی و در تمامی تیمارها متناسب با میزان فیبر مصرفی درفرمولاسیون کیک‌های مافین تولیدی بود، به‌گونه‌ای که بیشترین میزان بیاتی(کمترین امتیاز تازگی) به تیمار شاهد و 72 ساعت پس از تولید و کمترین میزان بیاتی(بیشترین امتیاز تازگی) به تیمار T3 و 24 ساعت پس از تولید تعلق داشت. به‌نظر می‌رسد دارا بودن خواص آب‌دوستی به دلیل وجود پیوندهای هیدروکسیل درفیبرها، سبب حفظ رطوبت و کاهش بیاتی کیک‌های مافین حاوی فیبر شده است (Lundberg, 2005).

ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های کیک مافین

نتایج حاصل از ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های کیک مافین در جدول 6 ارایه شده است.

جدول 6-نتایج مقایسه میانگین آزمون ویژگی های حسی در کیک های مافین

ویژگی/ تیمار	T	T1	T2	T3
حجم	14/02 ± 0/001a	12/41 ± 0/001c	13 ± 0/001b	14 ± 0/001a
ترک	12/35 ± 0/002a	11/88 ± 0/003b	11/74 ± 0/002c	11/64 ± 0/002c
بافت	12/35 ± 0/002a	12/06 ± 0/002b	11/64 ± 0/001c	11/29 ± 0/003d
قابلیت جویدن	10 ± 0/002b	11/07 ± 0/002a	9/65 ± 0/003b	9/9 ± 0/001c
عطر و طعم	8/65 ± 0/001a	8/67 ± 0/003a	8/52 ± 0/001b	8/47 ± 0/002b
یکنواختی حفرات	8/18 ± 0/001a	7/94 ± 0/002a	7/06 ± 0/003b	7 ± 0/001b
رنگ مغز کیک	4 ± 0/001a	3/59 ± 0/001b	3/59 ± 0/001b	3/58 ± 0/002b
رنگ پوسته خارجی	4/63 ± 0/002a	4/59 ± 0/002ab	4/24 ± 0/003bc	3 ± 0/002c
پذیرش کلی	87/59 ± 0/02 a	87/60 ± 0/01a	84/22 ± 0/02b	82/40 ± 0/03c

در هر ردیف وجود حرف مشترک، بر طبق آزمون دانکن، عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها را در سطح احتمال 1 درصد نشان می‌دهد.

T: تیمار شاهد، T1: تیمار حاوی 0/5درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین، T2: تیمار حاوی 1درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین T3: تیمار حاوی 2درصد فیبر پرتقال نسبت به وزن پودر مافین

ارزیابی حسی حجم نمونه‌های کیک مافین

با توجه به نتایج جدول 6، تیمار T (نمونه شاهد) دارای بیشترین حجم بود اما تفاوت معنی‌داری با تیمارT3 نداشت. تیمارهای T3 سپس T2 و T1 پس از تیمار شاهد دارای بیشترین میزان حجم و بالاترین میزان پذیرش از سوی پانلیست‌ها و دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند (P≤0.01). حجم بالای نمونه شاهد، به نقش تخم‌مرغ مصرفی در خمیر و تأثیر آن در بهبود هوادهی نسبت داده می‌شود که این نقش با جایگزینی فیبر پرتقال نیز تغییر نکرد. اما باید اشاره نمود که فیبرمصرفی نیز دارای تأثیر ویژه‌ای بر حجم محصول می‌باشد به‌طوری که ترکیبات مذکوردر مقادیر بالا سبب افزایش گرانروی خمیر،کاهش سرعت انتشار گاز و حفظ آن در مراحل اولیه پخت شده و به دلیل محبوس نمودن گازدی‌اکسیدکربن و بخار آب در

سلول‌های هوا باعث افزایش حجم محصول می‌گردند (Handleman *et al.*, 1961). چنین به‌نظر می‌رسد که افزایش ویسکوزیته سبب حبس حباب‌های هوا طی پخت و جلوگیری از افت حجمی کیک می‌گردد. ویسکوزیته بالا کمک بیشتری به ورود و حفظ بیشتر حباب‌های هوا می‌کند و استحکام خمیر را افزایش می‌دهد در نتیجه کمک به حفظ سلول‌های گازی در خمیر کیک می‌نماید (Handleman *et al.*, 1961). نتایج تحقیقات حاضر با تحقیقات Sayed و همکاران (2013) مطابقت نشان داد. آن‌ها طی بررسی‌هایی اعلام نمودند که افزودن فیبر حاصل از پوست میوه‌جات به کیک، سبب افزایش قابل توجه حجم نمونه‌ها می‌گردد (Sayed *et al.*, 2013).

ارزیابی حسی وجود ترک در نمونه‌های کیک مافین

با توجه به جدول 6، تیمار T3 سپس T2 و T1 دارای کمترین و تیمار T (نمونه شاهد) دارای بیشترین میزان ترک برسطح کیک‌های مافین تولید شده بودند ($P\leq0.01$). در بیان علت می‌توان عنوان نمود که استفاده از فیبرها سبب ایجاد پیوندهای پایدار و مستحکم در فرمولاسیون و کم شدن میزان ترک در نمونه‌ها گردید. افزایش مصرف فیبر پرتقال، اگرچه منجر به افزایش حجم نمونهها شد اما سبب افزایش تعداد حفرات موجود در ساختمان کیک و ریز و یکنواخت شدن این حفرات نیز شد. به‌علاوه به‌نظر می‌رسد که حضور فیبر سبب تقویت دیواره سلول‌های تشکیل‌دهنده این حفرات و پایداری در برابر ایجاد ترک در نمونه‌های کیک مافین تولیدی شده است Boyer & Liu, 2004).

ارزیابی حسی بافت نمونه‌های کیک مافین

با توجه به جدول 6 ، تیمار T3 سپس T2 و T1 دارای کمترین و تیمار T (نمونه شاهد) دارای بیشترین میزان مقبولیت از لحاظ صفت بافت از سوی پانلیست‌ها بودند ($P\leq0.01$).کاهش مقبولیت تیمارهای حاوی فیبر پرتقال را می‌توان به افزایش فیبر و در نتیجه آن افزایش حفره‌های ریز و ایجاد حالتی خمیری در کیک‌های مافین مرتبط کرد که با نتایج تحقیقات Karleskind و همکاران (1995) درباره ی افزایش ویسکوزیته و محبوس ماندن و افزایش بیش از حد حباب‌های گاز و ریز شدن حفره‌ها هنگام استفاده از فیبر مرکبات در کیک مطابقت دارد (Karleskind *et al.*, 1995). از آنجا که در نمونه‌های حاوی فیبر پرتقال، کاهش 25 درصدی میزان روغن وجود دارد و این مطلب که خمیر کیک یک امولسیون روغن در آب است که در آن حباب‌های هوا در فاز روغنی به دام افتاده‌اند و در این حالت چربی سبب ایجاد تردی، نگهداری هوا و احساس دهانی مطلوب در کیک می‌شود، می‌توان گفت که کاهش مقدار روغن در کیک‌های مافین تولیدی از دیگر علل عدم مقبولیت بافت می‌باشد. در این راستا نتایج حاصل از تحقیق با نتایج تحقیقات Arune panlop و همکاران(1996)درباره ی کلوخه‌ای شدن، خمیری و ایجاد حفرات ریز در بافت کیک در اثر کاربرد فیبرپرتقال مطابقت نشان داد (Arune panlop *et al.*, 1996).

ارزیابی حسی قابلیت جویدن نمونه‌های کیک مافین

با توجه به جدول 6، تیمار T1 از بیشترین میزان قابلیت جویدن وسپس تیمارهای شاهد و در رده‌های بعدی T2 و T3 از کمترین میزان قابلیت جویدن برخوردار بودند($P\leq0.01$). به‌نظر می‌رسد که دلیل افزایش نسبی قابلیت جویدن در تیمار T1 به حضور گروه‌های آبدوست در ساختار فیبر مصرفی مرتبط باشد که سبب افزایش جذب آب مغزی، جلوگیری از مهاجرت آب به پوسته و جلوگیری از لاستیکی شدن و تردی محصول می‌گردد (Angioloni *et al.*, 2008). علت کاهش قابلیت جویدن با افزایش میزان فیبر درتیمارهای T2 و T3 را می‌توان به کلوخه‌ای و خمیری شدن کیک در اثر کاربرد مقادیر بالای فیبر پرتقال و جذب آب بیشتر نسبت داد (Arune panlop *et al.*, 1996).

ارزیابی حسی عطر و طعم نمونه‌های کیک مافین

با توجه به جدول 6، تیمارهای T1 و شاهد از بالاترین امتیاز برخوردار بودند. هرچند که بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما تیمارهای T3 و T2 از کمترین امتیاز از لحاظ صفت عطر و طعم برخوردار بودند($P\leq0.01$) . علت عدم تفاوت معنی‌دار از نظر عطر و طعم در بین نمونه شاهد و تیمار T1 افزایش مقداری مناسب از فیبر و به دنبال آن افزایش مطلوب غلظت و بافت فاز آبی محصول می‌باشد که منجر به عدم تغییر محسوس طعم در دهان گردید (Sandrou *et al.*, 2000). درباره روند کاهشی امتیاز عطر و طعم با افزایش میزان فیبر درتیمارهای T2 و T3، نتایج حاصل با نتایج تحقیقات Arune panlop و همکاران (1996) هماهنگی داشت که بیان داشتند کاربرد مقادیر زیاد فیبر و به دنبال آن جذب آب بیشتر سبب کاهش قابلیت پخت و ایجاد بوی و طعم خامی در بافت کیک می‌گردد (Arune panlop *et al.*, 1996).

ارزیابی حسی یکنواختی حفرات نمونه‌های کیک مافین

با توجه به جدول 6، تیمارهای شاهد و T1 از بیشترین و تیمارهای T3 و T2 از کمترین میزان قابلیت پذیرش از لحاظ یکنواختی حفره‌ها از سوی پانلیست‌ها برخوردار بودند ($P\leq0.01$). نتایج حاصل در باره ی عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمار شاهد با T1 با نتایج Lundberg (2005) مطابقت داشت که عنوان نمود مافین‌های تولید شده با مقادیر کم فیبر پرتقال به‌عنوان جایگزینی برای روغن مصرفی، ازلحاظ تخلخل، بسیار مشابه انواع پرچرب (شاهد) آن

مـی‌باشـند(Lundberg, 2005). از سـوی دیگـر کـاهش مقبولیـت تیمارهای T2 و T3 را می‌توان به افزایش فیبر به بالای 1 درصد و در نتیجه آن افزایش بیش از انتظار حفره‌های ریز در کیک‌هـای مـافین مرتبط کرد (ریز بودن حفره‌ها در کیک مافین مطلوب نمی‌باشد)که با نتایج تحقیقـات Karleskind و همکـاران (1995) مطابقـت نشـان داد(Karleskind *et al.*, 1995).

ارزیابی ارگانولپتیکی رنگ مغز نمونه‌های کیک مافین

با توجه به جـدول 6، تیمـار T3 سـپس T2 و T1 از کمتـرین و تیمارT (شاهد) از بیشترین میزان قابلیت پذیرش از لحاظ رنـگ مغـز کیک از سوی پانلیست‌ها برخوردار بودند ($P\leq0.01$). با افزودن فیبر، کیفیت رنگ در تیمارها کاهش یافت به‌گونه‌ای که کیک‌های حاصل از تیمار T3 دارای زردترین و تیره‌ترین رنـگ در بـین سـایر تیمارهـا بودند. از آنجا که فیبرپرتقال دارای رنگ زرد مایل به قرمز مـی‌باشـد به‌نظر می‌رسد که افزایش مصرف آن به دلیل ماهیت رنگی آن، سبب افزایش طیف زرد و کاهش میزان روشنایی نسـبت بـه نمونـه شـاهد گردید. افزایش رنگ زرد نمونه‌ها در اثر افزایش مقدار فیبر را می‌توان به وجود رنگ دانه‌های زرد کارتنوئیدی در فیبر پرتقال نسبت داد. هم چنین وجود پیگمانت های رنگی و مواد معدنی بالادر فیبر پرتقـال از دیگر دلایل تیرگی رنگ در کیک‌های حاوی فیبر پرتقـال محسـوب می‌گردنـد (Lundberg, 2005). نتـایج حاضـر بـا نتـایج تحقیقـات Abdul-Hamid و همکاران (2000) مطابقت نشـان داد کـه عنـوان نمودند رنگ مغز محصولات نانوایی حاوی منبع فیبری سبوس بـرنج در مقایسه با نمونه شاهد، تیره‌تر می‌باشد و از میزان پذیرش کمتـری برخوردار هستند (Abdul-Hamid *et al*., 2000).

ارزیابی حسی رنگ پوسته خارجی نمونه‌های کیک مافین

با توجه به جدول 6، هرچند که بین تیمارهای شاهد و T1 تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما با افزودن فیبر، کیفیت رنـگ در تیمارهـا کاهش یافت به‌گونه‌ای کـه کیـک‌هـای حاصـل از تیمـار T3 دارای تیره‌ترین رنگ در بـین سـایر تیمارهـا بودنـد. اگرچـه فیبرهـا تـاثیر مستقیمی در واکنش مایلارد ندارند ولی به علت جاذبه الرطوبه بـودن منابع غنی ازفیبر، رطوبت در حد مناسبی جهت واکنش مایلارد تأمین می‌شود لذا باعث تیره‌تر شدن رنگ پوسته خـارجی کیـک مـی‌گـردد (Gomez *et al.*, 2005).

ارزیابی پذیرش کلی نمونه‌های کیک مافین به روش حسی

با توجه به جدول 6، تفاوت معنی‌دار، تنها بین برخـی از تیمارهـا مشاهده شد. بالاترین امتیاز سطح پذیرش از دیدگاه پانلیسـت‌هـا بـه تیمار T1 و سپس تیمار شاهد تعلق داشت. هرچند که بین تیمار شاهد و T1 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در مجموع تیمار T1 و شـاهد دارای بیشترین میزان قابلیت پذیرش کلی و از سوی دیگر تیمارهای T2 و T3 دارای کمترین میزان قابلیت پذیرش کلی از سوی پانلیست ها بودند ($P\leq0.01$). نتایج فوق نشان می‌دهد کـه جـایگزینی فیبـر پرتقال در سطح 0/5 درصد با 25 درصد از روغن و تخم‌مرغ مصرفی از نظر مصرف‌کنندگان مقبول بوده و تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد ندارد.

نتیجه‌گیری

بر اسـاس نتـایج، تیمارهـای T(شـاهد) و T3 بـه ترتیـب دارای کمترین و بیشترین میزان ویسـکوزیته و همچنـین از نظـر دانسـیته به‌ترتیب دارای بیشترین و کمتـرین مقـادیر بودنـد. از طرفـی نتـایج آزمون‌های شیمیایی بر روی کیک‌های مافین تولیدی نشان داد که با افزایش میزان فیبر پرتقال، میزان رطوبت، خاکسترو فیبرکل کیک‌های مافین افزایش یافت و بیشترین میزان آن به تیمارT3 و کمترین آن به تیمار شاهد تعلق داشت اما میزان pH در تمامی نمونه‌ها کاهش یافت به‌طوریکه تیمار T3 از کمترین و تیمار شاهد از بیشترین pH برخوردار بودند. همچنین با توجه به نتایج آزمون بیاتی به هر دو روش حسی و دستگاهی و در فواصل زمـانی 24، 48 و 72 سـاعت پـس از پخـت، تیمار T3 بالاترین امتیاز را از لحاظ تـازگی بافـت (تعویـق بیـاتی) و تیمارهای T2، T1وT (شاهد) به‌ترتیب امتیاز کمتری را در ارتباط بـا صفت مذکور و در تمامی بازه‌های زمانی دریافت کردند. با توجـه بـه نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های تولید شده، در اکثر ویژگی‌های حسی، تیمار T1 از بالاترین امتیاز نسبت به تیمارهای T2 و T3 برخوردار بود و بیشترین نزدیکـی بـه نمونـه شـاهد را داشـت و در ارزیـابی کلـی مطلوب‌تر تشخیص داده شد. با توجه به نتایج آزمـون پـذیرش کلـی نمونه‌های کیک‌های مافین، تیمار T1 وشاهد اختلاف معنـی‌داری بـا یکدیگر نداشتند وتیمار T1 نزدیک‌ترین نمونه به شاهد تعیین گردید و حتـی دارای بیشـترین امتیـاز و بـالاترین سـطح پـذیرش از نظـر مصرف‌کنندگان بود.

منابع

Anonymous., 2003, Approved Methods of theAmerican Association of Cereal Chemists (2thed.). *The Association: St. Paul*. MN.

Abdul –Hamid, A . and Luan ,Y. S., 2000, Functional properties from defatted rice bran .*Food Chimistry*, 68,15-19.

Angioloni, A. and Collar, C., 2008, Functonal response of diluted matrixes in high-fibre systems: A viscometeric and

rheological approach. *Food Research International*, 41, 803-812 .

Arune panlop, B., Morr, C.V., Korle Kind, D. and Lays, I., 1996, Partial replacement of egg white proteins with in whey in agent food cakes. *Journal of Food Science*, 61(5),1085-1093.

Boyer, J. and Liu, R. H., 2004, Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition journal*, 3(5),233-256.

Gomez, M., Ronda, F., Coballera, A., Blanco, A. & Rosell, M., 2005, Functionality of diffehydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes. *Food Hydrocolloids*, 21(2),167-173.

Handleman, A. R., Conn, J. F. and Lyons, J. W., 1961, Bubble mechanics in thick foams and their effect on cake quality.*Cereal Chemistry*, 38, 294-305.

Karleskind, D., Laye, I., Mei, F.I. and Morr, C.V., 1995, Gelation Properties of lipid-reduced and calcium-reduced whey protein concentrates. *Journal of Food Science*, 60, 731-737.

Lundberg , B., 2005, Using highly expanded citrus fiber to improve the quality and nutritiona properties of food. *Cereal Foods World* ,50 (5), 248-252.

Masoodi, F. A., Sharma, B.and Chauhan, G. S., 2002, Use of apple pomace as a source of dietary fiber in cakes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57,121-128.

Mirmajidi , A ., 1998, Effect of extraction rate on composition, rheological and bread making properties of flour. *Food Scince and Technology*, 3, 21-23.

Movahhed, S., Ranjbar, S., Nematti, N. and Sokotifar, R., 2012, Evaluation of the Effect of Carboxy Methyl Cellulose on Sensory Properties of Gluten-Free Cake. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology* , 4(19), 3819-3821.

Movahhed, S., Hydari, F. and Ahmadi Chenarbon, H., 2014,The Effect of Brown Rice Flour and Monoglyceride and Diglyceride Emulsifiers on Organoleptic and Staling Rate of Traditional Sangak Bread.*American-Eurasian Network for Scientific Information Journals*, Advances in Environmental Biology, 8(2), 431-436.

Pabon, C.V., Frouts, P., Latres, J. L. and Frouts, G., 1992, Invitro study of mixed controlled of bread baked indifferent ovens. *Food Science and Nutrition*, 18, 2163-2173.

Rajabzadeh, N., 1996, Technology of cereal. Tehran,Publication department of Tehran University,150.

Sayed, A. H. and Ahmed , A ., 2013, Utilization of watermelon rinds and sharlyn melon peels as a natural source of dietary fiber and antioxidants in cake . *Annals of Agricultural Science*, 58(1), 83-95.

Sandrou, K. and Arvanitoyannis, I. S., 2000, Low –fat/calorie foods: current state and perspectives. *Food Science and Nutrition*, 40, 427-447.

Turabi, E., Gulum, S. and Sahin, S., 2010, Quantitative analysis of macro and micro structure of gluten free rice cakes containing different types of gums baked in different ovens. *Food Hydrocolloids*, 24 (8), 755-.762

Waldron, W., Parker, L. and Smith, A., 2003, Plant cell walls and foodquality. *Food Science and Food Safety*, 2, 30-46.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 458-468

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 468-458

Effect of citrus fiber replacement to oil and egg on some physico-chemical and organoleptic properties of muffin

Z. Najafi[1], S. Movahhed[2*], H. Ahmadi Chenarbon[3]

Received: 2015.10.17
Accepted: 2016.06.05

Introduction: Cake is one of the most important and widely used cereals and a product of wheat flour. Usually, high-calorie in a variety of cakes is attributed to oils, eggs and sugar in their formulation. Nowadays, the risk of cardiovascular diseases is increasing in most parts of the world and the demand for using the low fat and low cholesterol foods is increasing due to the relationship between excess fat and various diseases. Therefore, it seems that the partial or complete removal of oil and egg and replacing them with other substances in the formulation of the cake is very important. In recent years, the use of dietary fiber of different sources in food products is increasing due its beneficial effects on human health. Among agricultural products, the residues from the processing of oranges are rich in fiber that can be used as a dietary fiber in the food industry. Fiber is a general term for many different types of carbohydrates that is obtained from plant cell walls and is not decomposed by digestive enzymes in the human body. Formulating the food with citrus fiber could be very beneficial since the exisence of a variety of fiber compounds in the peel of citrus with neutral pH that the property may leads it to be widely used in a variety of foods. Others advantage is that it lead to improve the cooking performance, increase the water binding capacity, the oil absorption and improve the final texture of product with lower costs.

Materials and methods: In this study, the use of citrus fiber was studied in order to improve the structure and nutritional properties of muffin with a new formulation. In this regard, the orange fiber at three levels (0.5%, 1% and 2%) and with 25% of decrease in oil and egg was used in the muffin production process. In this study, the raw materials, including null flour, sugar, liquid oil, eggs, milk, salt, vanilla, baking powder and orange fiber were prepared from France ID Food Company. Two-step mixing method was used to prepare the dough. The cakes were placed at 180 ° C for 30 minutes. In all tests, the control treatment with code T, treatment containing 0.5% of orange fiber with code T1, treatment containing 1% of orange fiber with code T2 and treatment containing 2% of orange fiber with code T3 were determined. First, the chemical tests including moisture, ash, fiber and pH were conducted on the wheat flour. Then, viscosity determination was carried out usinga Brookfield viscometer, Also the density measurement performed on the muffin cake dough. Afterwards, the production of different treatments, the chemical tests including moisture, ash, fiber and pH as well as the staling tests were performed by two sensory and instrumental methods by Instron device and also the organoleptic characteristics (volume, crack, balance of shape, taste and aroma, chewiness, apparent texture, uniformity of pores in the cake center and the color of cake center and the outer shell) were conducted by using five senses on the produced Muffin Cake according to the standard method.

Results and discussion: For statistical analysis of data from physicochemical and sensory tests, completely randomized design and data from staling test from factorial experiment in a completely randomized block design was used and the mean comparisons were conducted by Duncan's multiple range test at probability level of 1% (α=1%) and by using SPSS software, version 16. Considering the results of viscosity and density of the muffin cake dough, the highest amount of viscosity and density belonged to the treatment containing 2% of orange fiber (T3) and control (without orange fiber). The highest percentages of moisture, ash and fiber were calculated for the treatment T3 and the lowest amounts were calculated for control. Also, the highest and the lowest amounts of pH were observed in the treatments of control and T3, respectively. Also, considering the results of staling test by both sensory and instrumental methods and in the intervals of 24, 48 and 72 hours after baking and in all time periods of treatment T3 had the highest score of freshness (delay in staling) and the treatment containing 1% of orange fiber (T2), containing 0.5% of orange fiber (T1) and control (T) had the lowest score of freshness,

1 And 2. M.Sc Student and Associated Professor, Department of Food Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Agronomy, Varamin - Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
(*Corresponding Author Email: email: movahhed@iauvaramin.ac.ir)

respectively. The control sample had the highest amount of staling in all days and the amount of staling increased in all treatments over time. It is noteworthy that at all time intervals, the control sample had the highest rate of staling and the staling rate increased for all treatments over time. Considering the results of sensory test, T1 was introduced as the best treatment and in most of the organoleptic characteristics such as taste, flavor, uniformity of pores, chewiness, and overall acceptance had no significant difference with the control sample and was the nearest sample to the control and had the highest score and the highest level of consumer acceptance.

Conclusion: The results showed that adding different levels of orange fiber has a significant effects on physicochemical and organoleptic properties of the muffin cake and replacing 25% of oil and egg used in muffin cake with 0.5% of orange fiber is possible and has enough acceptances.

Keywords: Cake, Muffin, Fiber, Citrus fiber.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 469-479

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 479-469

تأثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی بر ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی، بافتی و ارگانولپتیکی بستنی نیم‌چرب

حسین جوینده[1*]- عرفان دانش[2]- مصطفی گودرزی[3]

تاریخ دریافت: 1394/08/06
تاریخ پذیرش: 1395/01/28

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی اثر غلظت‌های مختلف آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (صفر، 2، 4 و 6 واحد به ازای هر گرم پروتئین شیر) بر ویژگی‌های فیزیکی (سرعت ذوب و اورران)، رئولوژیکی، بافت و خواص حسی بستنی نیم‌چرب (5% چربی) بود. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز موجب افزایش اورران و میزان مقاومت به ذوب نمونه‌های بستنی نسبت به نمونه شاهد نیم‌چرب (5% چربی و بدون آنزیم) شده است. بررسی پارامترهای رئولوژیکی نیز حاکی از این بود که افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز موجب افزایش میزان ضریب قوام و نزدیک شدن شاخص رفتار جریان به صفر و در نتیجه افزایش ویژگی شل‌شوندگی با برش شده است. یافته‌های آماری آنالیز بافت نشان داد که تیمار ترانس‌گلوتامیناز، باعث کاهش سفتی و قوام و افزایش چسبندگی بستنی نیم‌چرب می‌شود. بر اساس نتایج ارزیابی حسی، تیمار آنزیمی باعث افزایش مقبولیت کلی بستنی نیم-چرب نزد مصرف‌کنندگان شد. در مجموع و با در نظر گرفتن تمامی ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی، بافتی و ارگانولپتیکی می‌توان عنوان داشت که نمونه حاوی 4 واحد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز از کیفیت بالاتری نسبت به سایر تیمارها بویژه نمونه شاهد نیم‌چرب برخوردار بود.

واژه‌های کلیدی: بستنی نیم‌چرب، ترانس‌گلوتامیناز میکروبی، رفتار جریانی، سفتی، ضریب افزایش حجم، مقاومت به ذوب

مقدمه

بستنی عبارت است از یک سیستم پیچیده کف‌مانند، که در آن حباب‌های کوچک گاز (هوا) لابه‌لای یک فاز پیوسته که به‌صورت جزئی منجمد شده است، پراکنده‌اند. در این فاز، چربی به‌صورت امولسیون، قوام‌دهنده‌ها و مواد جامد بدون چربی[4] (MSNF) به‌صورت کلوئیدی و قندها و نمک‌ها یک محلول حقیقی را تشکیل می‌دهند (مرتضوی و همکاران، 1374). هرکدام از این بخش‌ها به‌گونه‌ای روی بافت و کیفیت محصول نهایی تاثیر می‌گذارند (Byars، 2002). در این میان، چربی شیر از اهمیت ویژه‌ای برخودار است و مقدار آن باید با توجه به استانداردهای موجود در انواع بستنی کنترل شود. بستنی‌های که امروزه به بازار عرضه می‌شوند دارای سطوح متفاوتی از چربی می‌باشند. سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا، در جهت نظارت بر واحدهای تولیدی، با توجه به مقدار چربی بستنی‌ها، آن‌ها را به پنج دسته تقسیم و برای هر کدام تعاریفی ارائه کرده است. بر اساس این تعاریف، بستنی معمولی عموما دارای 10% چربی است و بستنی با چربی کاهش‌یافته[5] و بستنی سبک[6] به بستنی گفته می‌شود که چربی آن به ترتیب 25% و 50% از چربی بستنی معمولی کمتر باشد. بستنی کم‌چرب[7] و بستنی بدون چربی[8] نیز به بستنی گفته می-شود که میزان چربی آن‌ها به ترتیب بین 2 تا 4 درصد و کمتر از 0/8 درصد باشد (Marshall و همکاران، 2003). نقش تغذیه‌ای چربی شیر در فرمولاسیون بستنی، تامین انرژی، اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌های محلول در چربی است و از لحاظ تکنولوژیکی نیز روی خصوصیات فیزیکی و رئولوژیکی آن اثر می‌گذارد (Marshall & Arbuckle، 2005). مهم‌ترین نقش تکنولوژیکی چربی در بستنی، پایدار کردن حباب‌های هوا و کمک به تثبیت کف است (چگینی و

1 و 2- به‌ترتیب دانشیار و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
3- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
(* - نویسنده مسئول: Email: hosjooy@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.50914

4 Milk Solid Non Fat
5 Reduced-fat ice cream
6 Light ice cream
7 Low-fat ice cream
8 Non fat ice cream

مشکات، 1386). بررسی‌ها نشان می‌دهد که گلبول‌های چربی به طور ثابت، در حین انجماد ناپایدار شده، به یکدیگر می‌پیوندند و روی سطح حفره‌های هوایی متراکم می‌شوند و این امر موجب ایجاد قوام و پوشانندگی دهانی مناسب می‌گردد (Marshall & Arbuckle، 2005). در سال‌های اخیر تلاش‌های بسیاری جهت کاهش یا حذف چربی بستنی در جهت تولید محصولات غذایی سالم‌تر صورت پذیرفته است. با پایین آمدن میزان چربی، مشکلات زیادی در فرایند تولید و نگهداری بستنی ایجاد می‌شود. مشکلاتی نظیر افزایش سرعت ذوب بستنی، تشکیل کریستال‌های درشت یخ و یا ایجاد ظاهر شفاف و آبکی در بستنی‌های کم‌چرب، از جمله مواردی هستند که لازم است برای رفع آنها چاره‌اندیشی شود. برخی از تولیدکنندگان برای غلبه بر این مشکلات روی به استفاده از جانشین‌های چربی آورده‌اند، با این حال، نتایج پژوهش‌های حاکی از عدم رضایت کامل مصرف‌کنندگان از ویژگی‌های ارگانولپتیک بستنی‌های کم‌چرب یا بدون چربی حاوی جایگزین‌های چربی مانند صمغ‌ها و هیدروکلوئیدهای مختلف می‌باشند (Farshadfar و همکاران، 2003).

طی سال‌های اخیر استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی به‌منظور بهبود ویژگی‌های حسی و بافت محصولات لبنی کم‌چرب از جمله ماست و پنیر توسعه پیدا کرده است. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز یک آسیل‌ترانسفراز است که می‌تواند واکنش‌هایی مانند ایجاد اتصالات عرضی، انتقال آسیل و دآمیداسیون را کاتالیز یا تسریع کند. هنگامی که اسیدآمینه لیزین پذیرنده آسیل باشد، واکنش انتقال آسیل بین گروه Y– کربوکسی‌آمید اسید آمینه گلوتامین و گروه آمین نوع اول در اسیدامینه لیزین منجر به تشکیل پیوند عرضی گلوتامین – لیزین می‌شود (Gaspar & de Góes-Favoni، 2015). در میان پروتئین‌های موجود در فرمولاسیون بستنی، کاپا و بتا کازئین سوبسترای مناسب‌تری برای آنزیم ترانس‌گلوتامیناز می‌باشند (Rossa و همکاران، 2011). اما پروتئین‌های آب‌پنیر شامل آلفالاکتالبومین و بتالاکتوگلوبولین، در صورتی سوبسترای مناسبی برای آنزیم ترانس‌گلوتامیناز می‌باشند که با استفاده از پیش‌تیمار حرارتی دناتوره شوند (Rodriguez-Nogales، 2006). تصور می‌شود که آنزیم ترانس‌گلوتامیناز می‌تواند با ایجاد یک شبکه پروتئینی مستحکم و همگن، خصوصیات بستنی کم‌چرب را به بستنی پرچرب نزدیک کند (Rossa و همکاران، 2011). Rossa و همکاران (2011) با استناد به نتایج حاصل از آزمون الکتروفورز، نشان دادند که تیمار آنزیمی شیر حرارت دیده مورد استفاده برای بستنی‌سازی با ترانس‌گلوتامیناز میکروبی، منجر به ایجاد پیوندهای عرضی پروتئین‌های شیر با یکدیگر و تشکیل ساختارهایی با وزن مولکولی بالاتر می‌شود که در نتیجه آن، ویسکوزیته و قوام بستنی پرچرب ارتقا یافته و رفتار سودوپلاستیک آن تقویت می‌شود. این پژوهشگران در مطالعه دیگری (2012) در ارتباط با بررسی تاثیر تیمار آنزیمی شیر بستنی‌های با درصد چربی مختلف با غلظت ثابتی از ترانس‌گلوتامیناز (4 واحد به ازای هر گرم پروتئین شیر)، عنوان داشتند که بهبود مقاومت به ذوب، ضریب افزایش حجم[1] و کاهش سفتی در ارتباط با نمونه‌های تیمارشده دارای چربی کمتر، چشمگیرتر بوده است. تاکنون پژوهشی در ارتباط با تیمار شیر کم‌چرب با غلظت‌های مختلف آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی و تاثیر آن بر ویژگی‌های مختلف بستنی‌های حاصله صورت نپذیرفته است. بر این اساس هدف از پژوهش پیش‌رو، بررسی اثر غلظت‌های مختلف (صفر، 2، 4 و 6 واحد به ازای هر گرم پروتئین شیر) آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر ویژگی‌های فیزیکی (سرعت ذوب و اورران)، رئولوژیکی، بافتی و ارگانولپتیکی بستنی نیم‌چرب، در جهت دستیابی به محصولی با ویژگی‌های مطلوب می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

مواد مورد استفاده در تولید بستنی‌های پژوهش جاری شامل شیر (3% چربی و 8/5 % ماده خشک بدون چربی) و خامه (30% چربی) از کارخانه لبنیات میهن، شیر خشک بدون چربی (1% چربی و 96% ماده خشک) از شرکت پگاه مشهد، ترکیب پایدارکننده-امولسیفایر از شرکت Sunrose، و شکر و وانیلین از فروشگاه‌های معتبر محلی تهیه شدند. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی (EC ۱۳،۲،۳،۲) با میانگین فعالیت 100 واحد در گرم از شرکت BDF Natural Ingredients، اسپانیا تهیه شد.

تولید بستنی

فرمولاسیون بستنی شامل 5% چربی، 17% شکر، 7% شیر خشک بدون چربی، 1% مخلوط پایدارکننده- امولسیفایر و 0/1% وانیلین به‌عنوان طعم‌دهنده بود. جهت تهیه مخلوط بستنی، شیر و خامه، پس از توزین تا رسیدن به میزان چربی 5% با هم مخلوط شدند. مخلوط شیر با چربی تنظیم شده به مدت 15 دقیقه در دمای 78 درجه سانتی‌گراد به هدف دناتوره شدن پروتئین‌های شیر حرارت داده شد و پس از سرد شدن تا دمای 40 درجه سانتی‌گراد، آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در سطوح صفر، 2، 4 و 6 واحد به ازای گرم پروتئین شیر، به آن اضافه شد و به مدت 90 دقیقه (زمان بهینه اثر آنزیم) در این دما نگهداری شد. بعد از مرحله انکوباسیون، آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تحت تیمار حرارتی 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 2 دقیقه، غیر فعال گردید (Rossa و همکاران، 2011). سپس مخلوط مواد خشک (شکر، وانیل، شیرخشک، مخلوط امولسیفایر و پایدارکننده) به آن اضافه شد و به‌وسیله همزن کاملا مخلوط گردید. پاستوریزاسیون مخلوط حاصل در

1 Overrun

دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 25 ثانیه انجام گرفت. پس از پایان پاستوریزاسیون، مخلوط سریعا سرد شده و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت مرحله رسیدن را طی کرد. عملیات انجماد بستنی به‌وسیله دستگاه بستنی‌ساز غیرمداوم (Moulinex type A85، ایتالیا) به مدت 35 دقیقه انجام گرفت و بستنی در ظروف لیوانی 120 گرمی به ارتفاع 5 سانتی‌متر پر گردید. نمونه‌های تولیدی در فریزر 18- درجه سانتی‌گراد تا هنگام انجام آزمایشات نگهداری شدند. شایان ذکر است که نمونه بستنی با 5% چربی و بدون افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز طبق فرمولاسیون و روش ذکر شده، تولید و به‌عنوان نمونه شاهد نیم‌چرب در نظر گرفته شد. آزمون‌های مربوط به خصوصیات رئولوژیکی بستنی، در ارتباط با مخلوط بستنی رسیده و سایر آزمون‌ها در ارتباط با بستنی منجمدشده انجام گرفت. کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام پذیرفت و میانگین نتایج در آنالیز داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

پروتئین و چربی

ویژگی‌های شیمیایی شیر مورد استفاده در بستنی‌سازی با استفاده از دستورالعمل‌های AOAC (2000) اندازه‌گیری شد. بر این اساس چربی به روش ژربر و پروتئین توسط روش کلدال (حاصلضرب مقدار نیتروژن اندازه‌گیری شده در فاکتور 6/38) تعیین شد.

ضریب افزایش حجم

به‌منظور اندازه‌گیری ضریب افزایش حجم، از روش وزنی با مقایسه وزن حجم مشخصی از بستنی استفاده شد. برای این منظور، از بستنی نیم‌چرب شاهد و تیمارشده با ترانس‌گلوتامیناز، پیش و پس از انجماد در بستنی‌ساز، نمونه‌برداری شد و با استفاده از رابطه شماره‌ی 1 ضریب افزایش حجم محاسبه گردید (Wildmoser و همکاران، 2004).

(1) 100 × (وزن نمونه بعد از انجماد/ (وزن نمونه بعد از انجماد- وزن نمونه قبل از انجماد))= افزایش حجم

سرعت ذوب

سرعت ذوب طبق روش Lee و White (1991) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌های بستنی (120 گرم) بر روی یک توری با قطر سوراخ 2 میلی‌متر که به داخل یک سیلندر مدرج زهکشی شده بود، قرار داده شدند و به آنها اجازه داده شد در دمای 25 درجه سانتی‌گراد ذوب شوند. وزن زهکشی شده در بازه‌های زمانی ده دقیقه اندازه‌گیری شد و به‌عنوان تابعی از زمان محاسبه گردید.

آزمون رئولوژی

خصوصیات رئولوژیک نمونه‌های مخلوط بستنی به‌وسیله دستگاه رئومتر Physica Anton Paar (MCR 301، اتریش) مجهز به هندسه استوانه‌های هم‌مرکز انجام شد. رئومتر مجهز به یک سیرکولاتور حرارتی برای انجام آزمون بود. مخلوط بستنی پس از طی دوره رسیدن، در سیلندر دستگاه ریخته شد و توسط سیرکولاتور به دمای 0/1± 4 درجه سانتی‌گراد رسید. سپس دامنه مشخصی از سرعت برشی ($2\ S^{-1}$ تا $100S^{-1}$) بر نمونه‌ها اعمال شد. مدل قانون توان (رابطه 3) برای محاسبه شاخص رفتار جریان (n) و ضریب قوام (k) مورد استفاده قرار گرفت (Daw & Hartel، 2015). در این رابطه τ تنش برشی (Pa)، سرعت برشی (1/s)، K ضریب قوام ($Pa.s^{(n)}$) و n شاخص رفتار جریان می‌باشد.

$$\tau = K\ (\dot{\gamma})^{n} \qquad (2)$$

بافت

برای انجام این آزمون، ابتدا نمونه‌های نگه‌داری شده در فریزر، به مدت 5 دقیقه در دمای محیط قرار گرفتند. آنالیز بافت توسط دستگاه سنجش بافت[1] (Stable Micro System، مدل TA.XT.PLUS، انگلستان) با استفاده از پروپ شماره P/5S، انجام گرفت. پروپ دستگاه با سرعت 2 میلی‌متر بر ثانیه تا عمق 15 میلی‌متری نمونه‌های بستنی نفوذ کرد. بیشترین نیروی تراکمی طی نفوذ بعنوان سختی[2] و سطح بیشرین نیروی منفی طی برگشت پروپ به‌عنوان چسبندگ[3] در نظر گرفته شد. همچنین قوام[4] بصورت سطح زیر منحنی تا رسیدن به تغییر شکل تعریف شد (BahramParvar و همکاران، 2013).

ارزیابی حسی

ویژگی‌های حسی نمونه‌های بستنی شامل طعم (تازگی، عاری بودن از طعم پختگی)، رنگ (سفیدی)، بافت (نرمی، یکنواختی، عاری بودن از عیوب صمغی، شنی و یخی)، و پذیرش کلی (ارزیابی کلی طعم، رنگ و بافت) بوسیله یک پانل ارزیاب آموزش‌دیده 10 نفره مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی ویژگی‌های حسی از روش هدونیک پنج نقطه‌ای استفاده شد که رتبه‌بندی آن شامل بسیار خوب (5 امتیاز)، خوب (4 امتیاز)، متوسط (3 امتیاز)، ضعیف (2 امتیاز) و بسیار ضعیف (1 امتیاز) بود (Marshall و همکاران، 2003).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این پژوهش در قالب یک طرح کاملا تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه 9/2) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تمام

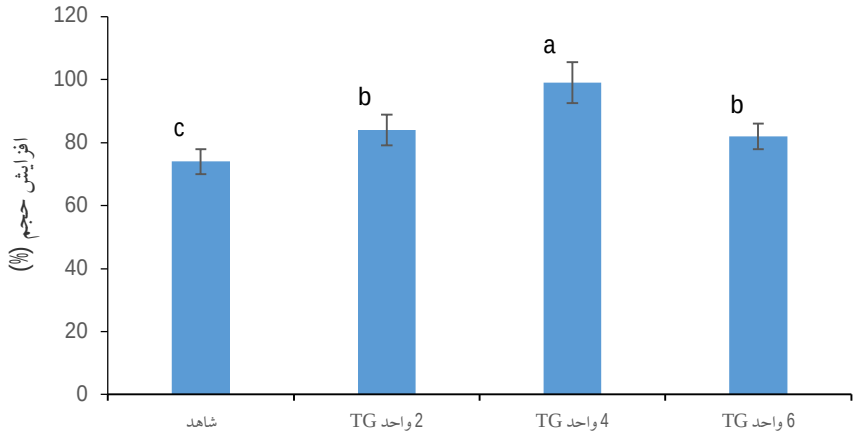
1 Texture Analyzer
2 Hardness
3 Adhesiveness
4 Consistency

آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد و برای مقایسه میانگین ویژگی‌های مختلف از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 95% استفاه گردید. همچنین برازش داده‌های تجربی به مدل‌های رفتار جریانی و رسم نمودارها، با استفاده از نرم‌افزار اکسل 2013 صورت پذیرفت

نتایج و بحث

ضریب افزایش حجم

ضریب افزایش حجم یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر کیفیت حسی بستنی و از اصلی‌ترین عوامل شکل‌گیری بافت و ساختار منحصر به فرد بستنی می‌باشد. افزایش حجم بستنی نسبت به حجم مخلوط اولیه، به دلیل ورود هوا در جریان فرآیند هم‌زدن و انجماد می‌باشد و تابعی از فرمولاسیون و چگونگی فرآیند تولید بستنی می‌باشد (Marshall و همکاران، 2003). نتایج آنالیز آماری نشان داد که میزان ضریب افزایش حجم نمونه‌های بستنی بین 58 تا 83 درصد متغیر است (شکل 1). با افزایش میزان آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تا 4 واحد به ازای گرم پروتئین شیر، میزان افزایش حجم نمونه‌های بستنی نسبت به نمونه شاهد نیم‌چرب افزایش معنی‌داری پیدا کرد. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با کمک به شکل‌گیری پیوندهای درون و بین مولکولی کازئین‌ها و پروتئین‌های آب‌پنیر، در تقویت ساختارهای پروتئینی قبلی و یا ایجاد ساختارهای شبکه‌مانند جدید، شرکت می‌جوید که احتمالا در نتیجه آن، قابلیت مخلوط بستنی در حفظ هوای تلفیق شده به فرمولاسیون (اوران)، بهبود می‌یابد. Rossa و همکاران (2011) نشان دادند که باندهای متعلق به بتا و کاپاکازئین، آلفالاکتولبومین و بتالاکتوگلبولین در ژل الکتروفورز مخلوط بستنی تیمارشده با ترانس‌گلوتامیناز نسبت به نمونه کنترل به مراتب کم‌رنگ‌تر است و در عوض، باندهای جدیدی متعلق به پلیمرهایی با وزن مولکولی بالاتر در الکتروگرام آن پدیدار شده است. این نتایج را به می‌توان به‌عنوان تاییدی بر احتمال تشکیل پیوندهای درون و بین مولکولی پروتئین‌های شیر در نتیجه تیمار آنزیمی با ترانس‌گلوتامیناز در نظر گرفت. در غلظت 6 واحد آنزیم، ضریب افزایش حجم یک کاهش جزئی از خود نشان داد که دلیل آن احتمالا ویسکوزیته بالای مخلوط بستنی در نتیجه ایجاد ساختارهای بسیار مستحکم پروتئینی در غلظت‌های بالای آنزیم می‌باشد (Gaspar & de Góes-Favoni، 2015). در برخی از پژوهش‌هایی که در زمینه بررسی کارایی هیدروکلوئیدهای مختلف به‌عنوان پایدارکننده بستنی صورت پذیرفته نیز، کاهش اوران در نتیجه افزایش چشمگیر ویسکوزیته، گزارش شده است (بهرام پرور و همکاران، 1390 و Martinou-Voulasiki & Zerfiridis، 1990). گفته می‌شود که یکی از کارکردهای ویسکوزیته در مخلوط بستنی، جلوگیری از بهم پیوستن حباب‌های هوا و خروج آنها از محصول و بدین ترتیب حفظ اوران یا همان افزایش حجم ایجاد شده می‌باشد (Bahramparvar & Mazaheri Tehrani، 2011). حال اگر ویسکوزیته از حدی بیشتر شود، فرآیند هم‌زدن مخلوط بستنی طی فرآیند تولید دشوار شده (Kaya & Tekin، 2001) و هوا به اندازه کافی وارد بافت نخواهد شد و در نتیجه اوران کاهش خواهد یافت. بر اساس این فرضیات، تاثیر دوگانه افزایش ویسکوزیته بر میزان افزایش حجم بستنی قابل توجیه خواهد بود.

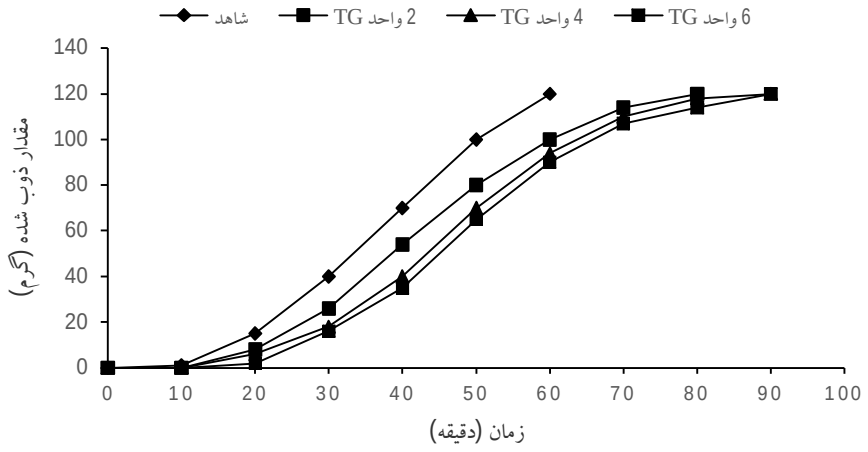


شکل 1- ضریب افزایش حجم بستنی نیم‌چرب شاهد و نمونه‌های تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز

سرعت ذوب

سرعت ذوب بستنی با عوامل متعددی از جمله اندازه کریستال یخ، مقدار و اندازه سلول‌های هوا و به‌ویژه، اندازه گلبول‌های چربی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Goff & Hartel، 2013). پروفیل ذوب

نمونه‌های بستنی تیمار شده با غلظت‌های مختلف آنزیم ترانس-گلوتامیناز در شکل 2 نشان داده شده است. سرعت ذوب بستنی با استفاده از معادله خطی حاصل از منحنی‌های ذوب مشخص شد. بر اساس یافته‌های بدست آمده، بالاترین سرعت ذوب شدن مربوط به نمونه شاهد نیم‌چرب بود و نمونه بستنی حاوی 6 واحد آنزیم ترانس-گلوتامیناز کمترین سرعت ذوب را داشت (جدول 1). نگاهی به پژوهش‌های صورت گرفته در زمینه دسرهای لبنی نشان می‌دهد که بستنی‌های کم‌چرب معمولا از اورران بیشتری نسبت به همتایان پرچرب خود برخوردار می‌باشند چرا که ویسکوزیته کمتر آنها، ورود هوا به مخلوط بستنی و به دنبال آن افزایش حجم را تسهیل می‌کند با این حال، همین ویسکوزیته کم، ممکن است منجر به ایجاد دیگر نقص-های بافتی محصول شود چرا که مقاومت به ذوب از رابطه مستقیم و تنگاتنگی با ویسکوزیته برخوردار می‌باشد. در طی ذوب شدن، حرارت محیط تدریجا از قسمت خارجی به قسمت داخلی بستنی نفوذ کرده و موجب ذوب شدن کریستال‌های یخ می‌شود. آب حاصل از ذوب کریستال‌های یخ، در فاز سرمی غیرمنجمد پخش شده و سپس مخلوط رقیق‌شده از بین ساختار کفی بستنی جریان یافته و در انتها، اصطلاحا چکه می‌کند (امیری و احمدی، 1393). بر این اساس، ویسکوزیته بالاتر بستنی موجب کاهش تحرک مولکول‌های آب و حرکت آزادانه آنها میان مولکول‌های مخلوط می‌شوند و بدین ترتیب باعث بهبود مقاومت به ذوب بستنی می‌شود. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز نیز، احتمالا با ایجاد یک شبکه مستحکم و همگن بین کازئین‌ها و پروتئین‌های آب‌پنیر، موجبات افزایش ویسکوزیته را فراهم کرده که در نتیجه آن، پایداری نمونه‌ها افزایش یافته و مقاومت آن‌ها به ذوب شدن در مقایسه با نمونه شاهد نیم‌چرب افزایش پیدا کرده است (Rossa و همکاران، 2012).



شکل 2- پروفیل ذوب شدن بستنی نیم‌چرب شاهد و نمونه های تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز

جدول 1- سرعت ذوب بستنی نیم‌چرب شاهد و نمونه‌های تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز

نمونه	سرعت ذوب (گرم بر دقیقه)	ضریب تعیین (R^2)
شاهد نیم‌چرب	2/18±0/13[a]	0/95
2 واحد آنزیم TG	1/76±0/08 [b]	0/96
4 واحد آنزیم TG	1/62±0/04 [c]	0/95
6 واحد آنزیم TG	1/60±0/02 [c]	0/94

حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح 95% می‌باشد

ویژگی‌های رئولوژیکی

ویسکوزیته مخلوط بستنی یک پارامتر مهم در تعیین رفتار جریان می‌باشد (Goff و همکاران، 1994). شکل 3، تغییرات ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های مخلوط بستنی را به موازات افزایش سرعت برشی نشان می‌دهد. همانطور که در شکل قابل مشاهده است، با افزایش سرعت برشی، ویسکوزیته تمامی نمونه‌ها کاهش پیدا کرد. این موضوع نشان‌دهنده رفتار سودوپلاستیک یا شل‌شونده با برش[1] مخلوط‌های بستنی است. علت بروز این رفتار، هم‌راستا شدن

1 Shear thinning

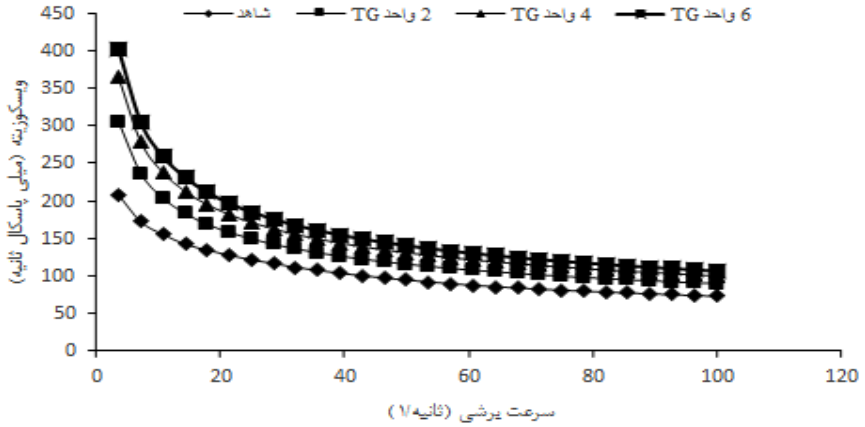
مولکول‌ها و افزایش اصطکاک داخلی با افزایش سرعت برشی می‌باشد (Goff و همکاران، 1994). رفتار سودوپلاستیک مخلوط بستنی پیش از این توسط Aime و همکاران (2001) و نیز González-Tomás و همکاران (2008) گزارش شده بود. اما نکته جالب توجه در این پژوهش، تقویت رفتار سودوپلاستیک بستنی در نتیجه تیمار با ترانس‌گلوتامیناز می‌باشد. همانطور که در جدول 2 قابل مشاهده است، با افزایش غلظت ترانس‌گلوتامیناز، شاخص رفتار جریان به صفر نزدیک‌تر شده است که نشان‌دهنده رفتار سودوپلاستیک‌تر این نمونه‌ها می‌باشد. Rossa و همکاران (2011) پیشتر، همین نتایج را در ارتباط با بستنی پرچرب گزارش کرده بودند. تقویت رفتار سودوپلاستیک، احتمالا به دلیل پیوندهای عرضی پروتئین‌ها و به وجود آمدن پلیمرهای با وزن مولکولی بالاتر به وسیله آنزیم ترانس‌گلوتامیناز می‌باشد. Innocente و همکاران (2002) بیان کردند که با افزایش سرعت برشی، مولکول‌های پلیمر بزرگ تمایل به جدا شدن و جریان یافتن دارند که در نتیجه مقاومت کمتری از خود نشان می‌دهند. نتایج حاکی از آن بود که با وجود رفتار جریانی مشابه تمامی نمونه‌ها، نمونه شاهد نیم‌چرب در تمام سرعت‌های برشی، کمترین میزان ویسکوزیته را دارا بود و با افزودن ترانس‌گلوتامیناز ویسکوزیته ظاهری افزایش یافت به‌گونه‌ای که نمونه حاوی 6 واحد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز دارای بیشترین ویسکوزیته ظاهری بود (شکل 3 و جدول 2). آنزیم ترانس‌گلوتامیناز توانایی تشکیل پلیمرهای با وزن مولکولی بالا از مونومرهای پروتئین را دارد که در نتیجه، مقاومت به جریان یافتن را افزایش می‌دهد (Gaspar & de Góes-Favoni، 2015). همچنین لازم به ذکر است که روند تغییرات ویسکوزیته نسبت به نرخ برش، در نمونه حاوی 6 واحد TG نسبت به نمونه‌های دیگر بالاتر بود (شکل 3). همانند ویسکوزیته ظاهری افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز ضریب قوام بستنی نیم‌چرب را نیز افزایش داد (جدول 2). که احتمالا در نتیجه افزایش پلیمریزاسیون پروتئین‌های شیر به‌وسیله آنزیم ترانس‌گلوتامیناز می‌باشد.

جدول 2- پارامترهای رئولوژیکی به‌دست آمده از مدل قانون توان برای بستنی نیم‌چرب شاهد و نمونه‌های تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز

نمونه	ویسکوزیته* (mPa. s)	ضریب قوام ($Pa. s^n$)	شاخص رفتار جریان	ضریب تعیین (R^2)
شاهد کم‌چرب	94±5 d	0/33±0/02 d	0/66±0/01 a	0/9982
2 واحد آنزیم TG	115±7 c	0/49±0/03 c	0/63±0/02 b	0/9934
4 واحد آنزیم TG	130±9 b	0/60±0/02 b	0/61±0/01 c	0/9956
6 واحد آنزیم TG	140±9a	0/67±0/01 a	0/60±0/02 c	0/9981

* ویسکوزیته در سرعت برشی 50 (ثانیه/1) گزارش شده است.

حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح 95% می‌باشد



شکل 3- تاثیرسرعت برشی بر ویسکوزیته ظاهری بستنی نیم‌چرب شاهد و نمونه‌های تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز

بافت

سفتی

سفتی بستنی عبارت است از، میزان مقاومت بستنی به تغییر شکل، زمانی که یک نیروی خروجی استاندارد بر آن اعمال شود (Lim و همکاران، 2008). نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که بیشترین میزان سفتی مربوط به نمونه نیم‌چرب می‌باشد (جدول 3). سفتی یک از مشکلات اصلی بستنی‌های با چربی کاهش‌یافته می‌باشد. چربی با جلوگیری از تشکیل کریستال‌های یخ و به دنبال آن،

ممانعت از ایجاد یک بافت زبر و شنی، نرمی مطلوب را برای بستنی فراهم می‌کند (Rossa و همکاران، 2012). نتایج نشان داد که در نتیجه تیمار آنزیمی شیر با ترانس گلوتامیناز، میزان سفتی بستنی‌های حاصله کاهش چشمگیری پیدا می‌کند (شکل 4). شایان ذکر است که غلظت 6 واحد آنزیم موجب افزایش سفتی محصول نسبت به نمونه‌های حاوی 2 واحد و 4 واحد آنزیم شد اما کماکان میزان سفتی آن از نمونه شاهد نیم‌چرب کمتر بود (شکل 4). El-Nagar و همکاران (2002) بیان کردند که تقویت شبکه پروتئینی موجب ایجاد یک امولسیون یکنواخت و پایدار می‌شود و از تشکیل کریستال‌های یخ جلوگیری می‌کند. اینگونه به‌نظر می‌رسد که تیمار آنزیمی ترانس-گلوتامیناز، با پلیمریزاسیون پروتئین‌های بستنی و ایجاد یک شبکه مستحکم پروتئینی و به دنبال آن افزایش ویسکوزیته مخلوط بستنی، منجر به کاهش کریستاله شدن یخ و در نتیجه کاهش سفتی بستنی می‌شود.

چسبندگی

چسبندگی به مقدار کار مورد نیاز برای غلبه بر نیروهای جاذب بین سطح ماده غذایی و سطح ماده‌ای که با آن در تماس است بر می‌گردد. این پارامتر به اثر ترکیبی نیروهای چسبندگی و پیوستگی و عوامل دیگری مثل ویسکوزیته و ویسکوالاستیسیته بستگی دارد (BahramParvar و همکاران، 2013). یافته‌های آماری نشان داد که افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تا 4 واحد، موجب افزایش چسبندگی نمونه‌های بستنی می‌شود ولی بیش از آن، یک کاهش در میزان چسبندگی مشاهده شد. بررسی منابع نشان می‌دهد که مواد غذایی با ماتریس پروتئینی بازتر و ضعیف‌تر چسبندگی بیشتری دارند (Dimitreli & Thomareis، 2007). بر این اساس، اینگونه می‌توان انگاشت که آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با ایجاد یک شبکه پروتئینی و حفظ هوای بیشتر در ساختار بستنی (اورران بیشتر) (شکل 1)، باعث ایجاد یک ماتریس غذایی بازتر و به دنبال آن، افزایش چسبندگی بستنی نیم‌چرب شده است. کاهش مشاهده شده در میزان چسبندگی نمونه تیمارشده با 6 واحد آنزیم را نیز می‌توان به کاهش اورران و فشرده‌ترشدن بافت بستنی در نتیجه تیمار با غلظت‌های بالای ترانس‌گلوتامیناز نسبت داد.

قوام

قوام بصورت کار مورد نیاز برای رسیدن به یک تغییر شکل مشخص تعریف شده است و شاخصی از قدرت پیوندهای درونی ماده است (BahramParvar و همکاران، 2013). یافته‌های آماری نشان داد که قوام نمونه‌های بستنی حاوی مقادیر مختلف آنزیم ترانس-گلوتامیناز از الگوی مشابهی با روند تغییرات سفتی پیروی کرده است به گونه‌ای که تا مقادیر 4 واحد آنزیم، قوام بستنی به صورت معنی-داری کاهش پیدا کرد، اما با افزایش غلظت آنزیم به 6 واحد، افزایش معنی‌داری در قوام بستنی نسبت به نمونه‌های حاوی 2 و 4 واحد آنزیم مشاهده شد. همانطور که پیش‌تر ذکر شد، احتمالا تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز با افزایش ویسکوزیته مخلوط بستنی، مانع از رشد کریستال‌های یخ در بستنی می‌شودکه در نتیجه آن نیروی کمتری برای غلبه بر پیوندهای درونی بستنی لازم است.

جدول 3- خصوصیات بافتی بستنی نیم‌چرب شاهد و نمونه های تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز

نمونه	سفتی (kg)	چسبندگی (kg.s)	قوام (kg.s)
شاهد کم‌چرب	36±4 a	0/40±0/02 c	288±15 a
2 واحد آنزیم TG	28±3 b	0/55±0/03 b	210±12 b
4 واحد آنزیم TG	20±2 d	0/75±0/02 a	157±9/5 d
6 واحد آنزیم TG	24±2 c	0/58±0/01 b	188±11 c

حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح 95% می‌باشد

ارزیابی حسی

نتایج حاصل ارزیابی حسی نمونه‌های مختلف بستنی در جدول 4 نشان داده شده است. بررسی نتایج نشان می‌دهد که تیمار آنزیمی شیر بستنی‌سازی با 2 یا 4 واحد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، منجر به تغییر معنی‌داری در میزان پذیرش طعم محصول نزد مصرف‌کننده نمی‌شود حال آنکه، نمونه‌های تیمار شده با 6 واحد آنزیم، کاهش چشمگیری را در مطلوبیت طعم تجربه کردند. این درحالیست که، هیچ‌کدام از غلظت‌های آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، باعث تغییر معنی‌داری در مطلوبیت رنگ بستنی نیم‌چرب نشدند. بررسی بافت نمونه‌های بستنی، بیانگر بهبود بافت بستنی نیم‌چرب در نتیجه افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بود به‌گونه‌ای نمونه تیمار شده با بالاترین غلظت آنزیم، از بهترین مقبولیت بافت نیز برخوردار بود. در نهایت نیز نتایج امتیاز پذیرش کلی ارزیابی حسی نشان داد که نمونه بستنی حاوی 4 واحد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بیشترین مقبولیت را بین مصرف‌کنندگان کسب کرده است.

جدول 4- ارزیابی حسی بستنی نیم‌چرب شاهد و نمونه‌های تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز

	طعم	بافت	رنگ	پذیرش کلی
شاهد نیم‌چرب	2/9 ± 0/4[a]	2/1 ± 0/5[c]	3/5 ±0/4[a]	2/5 ± 0/6[c]
2 واحد آنزیم TG	3/0 ± 0/5[a]	3/4 ± 0/5[b]	3/4 ±0/5[a]	3/4 ± 0/4[b]
4 واحد آنزیم TG	2/9 ± 0/3[a]	4/1 ± 0/4[a]	3/3 ±0/4[a]	3/9 ± 0/3[a]
6 واحد آنزیم TG	2/5 ± 0/3[b]	4/2 ± 0/4[a]	3/3 ± 0/5[a]	3/5 ± 0/3[b]

حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح 95% می‌باشد

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزودن آنزیم ترانس-گلوتامیناز، می‌توان ویژگی‌های کاربردی، رئولوژیکی، بافتی و ارگانولپتیکی بستنی نیم‌چرب را بهبود بخشید. تیمار آنزیمی با ایجاد یکه شبکه مستحکم پروتئینی، پایداری امولسیون و قابلیت تشکیل کف را بهبود بخشید و در نتیجه موجب اصلاح ویژگی‌های فیزیکی شامل ضریب افزایش حجم و مقاومت به ذوب شدن شد. بررسی پارامترهای رئولوژیکی نشان از کارایی آنزیم در افزایش ویسکوزیته و بهبود پارامترهای رئولوژیکی بستنی نیم‌چرب داشت. نتایج حاصل بیانگر این موضوع بود که با استفاده از تیمار آنزیمی می‌توان بستنی با میزان چربی کاهش‌یافته و خواص کاربردی، رئولوژیکی و ارگانولپتیکی مطلوب تولید کرد.

منابع

Aime, D. B., Arntfield, S. D., Malcolmson, L. J. and Ryland, D., 2001, Textural analysis of fat reduced vanilla ice cream products, *Food Research International*, 34(23), 237-246.

Amiri, Z.R. and Ahmadi, M.E., 2014, the possibility of carboxy methyl cellulose and tragacanth gum on the physical and sensory properties of ice cream, *Journal of Food Research*, 24(2), 279-290.

AOAC, 2000, Official Methods of Analysis. 17th Ed, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, *Maryland*, USA.

Bahramparvar, M. and Mazaheri Tehrani, M., 2011, Application and functions of stabilizers in ice cream, *Food Reviews International*, 27(4), 389-407.

BahramParvar, M., Tehrani, M. M. and Razavi, S. M., 2013, Effects of a novel stabilizer blend and presence of κ-carrageenan on some properties of vanilla ice cream during storage, *Food Bioscience*, 3, 10-18.

Bahramparvar, M., Haddad Khodaparast, M. H. and Razavi, S. M A., 2011, Effects of selected stabilizerson physicochemical and sensory characteristics of ice cream, *Food Processing and Production*, 1(1), 7-14.

Byars, J., 2002, Effect of a starch-lipid fat replacer on the rheology of soft-serve ice cream, *Journal of Food Science*, 67(6), 2177-2182.

Chegini, B. and Meshkat, A., 2007, Science and Technology of ice cream, Aeej Press, Pp. 87-179.

Daw, E. and Hartel, R. W., 2015, Fat destabilization and melt-down of ice creams with increased protein content, *International Dairy Journal*, 43, 33-41.

Dimitreli, G. and Thomareis, A. S., 2007, Texture evaluation of block-type processed cheese as a function of chemical composition and in relation to its apparent viscosity, *Journal of Food Engineering*, 79, 1364-1373.

El□Nagar, G., Clowes, G., Tudorică, C. M., Kuri, V. and Brennan, C. S., 2002, Rheological quality and stability of yog□ice cream with added inulin, *International Journal Of Dairy Technology*, 55(2), 89-93.

Farshadfar, s., Ranjbari, p., Javadian, sh. and Ghaderi, M., 2003, Quality Improvement of Dairy and Meat Products by Whey Products, *Fars Engineering Research Center* 2003; P. B.71555-414.

Gaspar, A. L. C. and de Góes-Favoni, S. P., 2015, Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review, *Food Chemistry*, 171, 315-322.

Goff, H. D. and Hartel, R. W., 2013, Ice cream (7th Ed.). New York, NY, USA: Springer US.

Goff, H. D., V. J. Davidson, and E. Cappi., 1994, Viscosity of ice cream mix at pasteurization temperatures, *Journal Dairy Scince.* 77:2207–2213.

González-Tomás, L., Bayarri, S., Taylor, A. J. and Costell, E., 2008, Rheology, flavour release and perception of low-fat dairy desserts, *International Dairy Journal*, 18 (8), 858-866.

Innocente, N., Comparin, D. and Corradini, C., 2002, Proteose-peptone whey fraction as emulsifier in ice-cream preparation, *International Dairy Journal*, 12(1), 69-74.

Kaya, S. and Tekin, A. R., 2001, The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice-cream mix, *Journal of Food Engineering*, 47: 59-62.

Lee, F. Y. and White, C. H., 1991, Effect of ultrafiltration retentates and whey protein concentrates on ice cream quality during storage, *Journal of Dairy Science*, 74, 1170-1180.

Lim, S. Y., Swanson, B. G., Ross, C. F. and Clark, S., 2008, High hydrostatic pressure modification of whey protein concentrate for improved body and texture of lowfat ice cream, *Journal of dairy science*, 91(4), 1308-1316.

Marshall, R. T. and Arbuckle, W. S., 2005, Ice cream, Torkashvand, Y., Tehran, Eta. Page 59, 49, 73, 96-98, 320.

Marshall, R.T., Goff, H.D. and Hartel, R.W., 2003, *Ice cream*, 6th Ed. New York: Springer.

Martinou-Voulasiki. I.S. and G. K. Zerfiridis., 1990, Effect of some stabilizers on textural and sensory characteristics of yogurt ice cream from sheep's milk, *Journal of Food Science*, 55 (3): 703-707.

Mortazavi, S. A., Ghods Rohani, M. and Jooyandeh, H., 1374, Technology of milk and dairy products, translation to Persian, Mashhad Ferdowsi University Press, Pp. 266.

Rodriguez-Nogales, J. M., 2006, Enhancement of transglutaminase-induced protein cross-linking by preheat treatment of cows' milk: a statistical approach, *International Dairy Journal*, 16(1), 26-32.

Rossa, N. R., Sá, E. M. F., Burin, V. M. and Bordignon-Luiz, M. T., 2011, Optimization of microbial transglutaminase activity in ice cream using response surface methodology, LWT-*Food Science and Technology*, 44, 29-34.

Rossa, P. N., Burin, V. M., and Bordignon-Luiz, T. M., 2012, Effect of microbial transglutaminase on functional and rheological properties of ice cream with different fat contents, LWT - *Food Science and Technology* 48, 224-230.

Wildmoser, H., Scheiwiller, J. and Windhab, E. J., 2004, Impact of disperse microstructure on rheology and quality aspects of ice cream, LWT- *Food Science and Technology*, 37(8), 881-891.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 469-479

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 479-469

Effect of microbial transglutaminase on physical, rheological, textural and sensory properties of light ice cream

H. Jooyandeh[1*], E. Danesh[2], M. Goudarzi[3]

Received: 2015.11.27
Accepted: 2016.04.16

Introduction: Health-conscious consumers are interested in eating dairy products including ice cream with less fat. As a consequence, the dairy industry has developed a variety of reduced-fat ice cream products. However, quality aspects of many of these products do not meet consumer expectations for ice cream flavor, texture, and appearance. The formation of the ice cream structure is hindered when the fat content is reduced and attributes related to quality, such as viscosity, ice crystallization, hardness, melting rate and flavor, are affected. Low melting resistance, high firmness and undesirable flavor are the most cited defects in reduced-fat ice creams. Enzymatic treatment of reduced-fat milk with microbial transglutaminase has been found to improve the textural and sensory properties of the final dairy products. The transglutaminase enzyme (MTGase; protein-glutamine gamma glutamyl transferase, EC 2.3.2.13) catalyses "acyl" transfer reactions between γ-carboxyamide groups of glutamine residues (acyl donor) and the ε-amino group of lysines (acyl acceptor) in proteins, leading to inter- or intra-molecular cross-linking. The enzyme-catalyzed cross-linking of milk proteins results in the formation of high molecular weight polymers that not only are able to lower the melting rate thorough increasing the viscosity of ice cream mix, but they could also provide a smoother texture for the product by mechanically obstructing ice crystal growth. However, the extensive cross-linking of milk proteins may even adversely affect the physical properties of the resultant ice cream and thus, the added amount of enzyme needs to be adequate for the desired effects. The aim of this study was to investigate the effects of different concentrations of TGase enzyme on physical and sensory properties of light ice cream in order to selct the appropriate amount of enzyme concentration that provides the best results.

Materials and methods: The light ice cream (5% w/w fat) was treated with different concentrations of TGase enzyme (2, 4 and 6 units/g milk protein). The enzyme-treated samples were investigated for flow behavior characteristics (apparent viscosity, flow index, consistency index), overrun, melting rate, hardness and sensory properties (flavor, texture, color and total acceptability) in comparison with control light ice cream with no added Tgase.

Results and discussion: The results revealed that TGase treatment effectively increased the viscosity of light ice cream.The higher the enzyme concentration, the greater the viscosity of ice cream samples. This could be attributed to TGase-catalyzed formation of large protein polymers in ice cream mix that resist to flow. All enzyme-treated ice cream mixes exhibited shear-thinning behavior, where the viscosity decreased with increasing shear rate. The power law model was used to find consistency and flow indices for different treatments. The results showed that consistency index increased and flow behavior index decreased with TGase concentration. The stronger shear-thinning behavior (lower flow index) of the samples treated with higher concentration of TGase might be arisen from formation of higher number of large protein polymers in theses samples, which decrease in size during shearing. The enzyme treatment significantly increased the overrun of the light ice cream that could be due to the increasing effect of TGaes on the viscosity. The increase in viscosity promotes the retention of air in the ice cream which is concomitant with increased overrun; however, high viscosity reduces the whipping rate leading to lower incorporation of air into the ice cream and thus decreased overrun. This may account for significantly lower overrun of the light ice cream treated with 6 units TGase/g milk protein than the samples treated with 4 units TGase /g milk protein. It was observed that the enzyme treatment caused a significant improvement in melting resistance of light ice cream. In fact, the light ice cream treated with 6 or 4 units TGase /g milk protein took the longest time to melt, followed by the samples treated

1 And 2. Associate Professor and M.SC., Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
3. M.SC., Department of Food Science, Technology & Engineering, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
(*Corresponding Author Email: email: hosjooy@yahoo.com)

with 2 and 0 units TGase /g milk protein. This is somehow in accordance with the results of overrun; that is, the ice cream with higher overrun melted slower attributed to a reduced rate of heat transfer due to a larger volume of air. The overrun could also affect the hardness of ice cream as evidenced by the results of the present study. The results showed that the samples with greater overrun were softer. It could be assumed that the air cells, together with large protein polymers formed via catalytic action of TGase, limited the size of ice crystals by exerting mechanical hindrance, providing a softer texture for the enzyme-treated ice creams. Not surprisingly, the enzyme treatment did not considerably influence the flavor of light ice cream albeit the sample treated with 6 units TGase /g milk protein received significantly lower score than the other samples. Conversely, the color of enzyme-treated samples was more appreciated by consumers than the sample without added TGase possibly because of light scattering properties of enzymatically formed protein polymers in theses samples. Consistent with the results of physical properties, the texture of light ice cream treated with 4 or 6 units TGase /g milk protein were ranked as the most desirable samples, followed by the samples treated with 2 and 0 units TGase /g milk protein. The order of light ice cream samples for total acceptability scores was the same as that for texture scores with the exception of the sample treated with 6 units TGase /g milk protein whose total acceptability score was lower than the sample treated with 4 units TGase /g milk protein.

Keywords: Light ice cream, Microbial transglutaminase, Flow behavior, Hardness, Overrun, Melting resistance

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 480-490

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 490-480

تاثیر متابی‌سولفیت سدیم و پیش تیمار اسمزی بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی برش لیموترش شیرازی خشک شده تحت خلاء

آیسان فلکی[1]- نارملا آصفی[2*]

تاریخ دریافت: 1394/08/06
تاریخ پذیرش: 1395/03/16

چکیده

در این مطالعه تاثیر محلول متابی سولفیت سدیم و پیش تیمارهای اسمزی مختلف (شکر 40درصد ، نمک 15 درصد و ترکیب شکر- نمک با20درصد- 20درصد) بر میزان از دست دادن آب و جذب مواد جامد محلول قبل از خشک شدن تحت خلاء و میزان سرعت خشک شدن، اسید اسکوربیک، EC50، چروکیدگی و ویژگی‌های حسی تعیین شد. طبق نتایج، غوطه‌وری در محلول متابی سولفیت سدیم در (سطح احتمال 1%) خاصیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش و زمان خشک شدن و میزان اسید اسکوربیک نمونه‌ها را کاهش داد. همچنین محلول اسمزی ترکیبی(شکر 20 درصد -نمک 20 درصد) نقش عمده‌ای در کاهش رطوبت وافزایش درصد جذب مواد جامد محلول طی اسمز داشت. همچنین استفاده از محلول اسمزی شکر 40 درصد توانست مواد مغذی میوه را حفظ کرده و باعث افزایش کیفیت تغذیه‌ای محصول نهایی گردد.

واژه‌های کلیدی: اسمز، خشک کردن تحت خلاء، لیموترش، متابی سولفیت سدیم

مقدمه

لیمو ترش (*Citrus Limon*) بعد از پرتقال و نارنگی از سومین مرکبات مهم جهان است. خواص لیموترش به اسید اسکوربیک و ترکیبات فنلی و عمدتا به فلاونوئیدها نسبت داده شده است (Garcia و همکاران، 2013). عصاره پوست مرکبات و (همچنین لیمو ترش) به‌عنوان یک منبع طبیعی از آنتی‌اکسیدان و مهارکننده رادیکال‌های آزاد می‌باشند (Campelo *et al*, 2011; Rehman, 2006).

امروزه بسیاری از متخصصین تغذیه برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان، میوه‌جات و سبزیجات را توصیه می‌نمایند، زیرا معمولاً مصرف آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی عوارض جانبی کمتر و درمان بهتری ایجاد می‌نمایند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما و کاهش ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و سکته مغزی می‌شوند (میرزایی و همکاران، 1390).

خشک کردن میوه‌ها و کاهش رطوبت یکی از بهترین راه‌های نگهداری می‌باشد، فرآیندهای خشک شدن می‌تواند متفاوت باشد واین فرآیند نیز بر کیفیت نهایی و خواص تغذیه‌ای محصول تاثیر بسزایی دارد اما بطور کلی فرآیندهای خشک کردن در دماهای بالا باعث کاهش خواص تغذیه‌ای می‌شود(Garcia *et a.l*, 2013).

آب‌گیری اسمز می‌تواند به عنوان پیش فرایندی جهت آبگیری اولیه میوه‌ها قبل از خشک کردن با هوای داغ مورد استفاده قرار گیرد (امام جمعه و علا الدینی، 1384). عوامل زیادی بر انتقال مواد در آب‌گیری اسمزی تاثیر دارد که میتوان به ترکیب محلول اسمزی، غلظت محلول اسمزی، دمای انجام فرآیندو ایجاد حرکت (استفاده از شیکر) اشاره کرد (Phisut, 2012).

از دست دادن آب به طریق اسمزی می‌تواند برای حذف آب محصولات حساس به حرارت با مصرف انرژی کم و در درجه حرارت پایین بسیار مناسب باشد اما این روش به تنهایی و بصورت تک مرحله‌ای نمی‌تواند برای خشک کردن در مدت زمان کوتاه مناسب باشد (Changure and Orsat, 2009). مطالعات حاکی از نرخ تخریب پایین ترکیبات در روش اسموتیک می‌باشد، همچنین روند تخریب اسید اسکوربیک بستگی به دمای هوای خشک‌کن دارد (Marfil *et al*., 2008).

پیش تیمار اسمزی علاوه بر کاهش زمان خشک کردن با مهار فعالیت آنزیمی باعث حفظ رنگ طبیعی و حفظ رایحه فرار در طول خشک کردن می‌شود (Harati *et al*,. 2011). در خشک کردن تحت خلاء، حذف رطوبت از محصولات غذایی تحت فشار پایین

1 و 2- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: n.asefi@iaut.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.50952

انجام می‌گیرد. فشار پایین اجازه می‌دهد دمای خشک کردن به حداقل کاهش یابد و کیفیتی بالاتر از روند معمولی خشک کردن باهوای داغ در فشار اتمسفر به‌دست بیاید. خشک‌کن خلاء برای محصولات حساس به حرارت واکسید شدن مناسب است (Arevalo *et al*,. 2007). فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های بالای اسمزی کاهش می‌یابد در مقابل غلظت کم محلول اسمزی و کاهش مدت زمان خشک کردن و خلاء(عدم حضور اکسیژن) باعث حفظ قدرت آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Stojanovic and Silva, 2007). هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر متابی‌سولفیت‌سدیم و پیش تیمار اسمزی بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی برش لیموترش شیرازی خشک شده تحت خلاء بوده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش لیمو ترش شیرازی از بازار محلی تبریز خریداری گردید و قبل از انجام آزمایشات در سردخانه بالای صفر نگهداری شد. لیموترش‌ها یک ساعت قبل از تهیه تیمارها از یخچال خارج شده در معرض دمای محیط قرار گرفتند و پس از شستشو، توسط یک کاتر دستی (قالب آلومینیومی) به برش‌های نازکی حدوداً 4 میلی‌متر برش داده شدند. مدت زمان غوطه‌وری در محلول متابی سولفیت سدیم در تمامی نمونه‌ها 10 دقیقه، نسبت نمونه به محلول 1:6 و مدت زمان اسمز 4 ساعت و نسبت محلول به نمونه 1:5 در دمای محیط و فشار اتمسفری بوده و عمل هم‌زدن در مدت زمان ثابت هر یک ساعت در طی اسمز انجام شد.

جدول1- تیمارهای بکار رفته در آزمایش

ردیف	نوع محلول اسمزی	کد
1	بدون غوطه وری در متا بی سولفیت سدیم و بدون اسمز	a_1b_1
2	بدون غوطه وری در متا بی سولفیت سدیم با محلول اسمز شکر40 درصد	a_1b_2
3	بدون غوطه وری در متا بی سولفیت سدیم با محلول اسمز نمک15 درصد	a_1b_3
4	بدون غوطه وری در متا بی سولفیت سدیم با محلول اسمز ترکیب شکر و نمک20-20درصد	a_1b_4
5	غوطه وری در متا بی سولفیت سدیم و بدون اسمز	a_2b_1
6	غوطه وری در متا بی سولفیت سدیم و با محلول اسمز شکر40 درصد	a_2b_2
7	غوطه وری در متا بی سولفیت سدیم و با محلول اسمز نمک15درصد	a_2b_3
8	غوطه وری در متا بی سولفیت سدیم و با محلول اسمز ترکیب شکر و نمک20-20درصد	a_2b_4

آون مورد استفاده در این پژوهش دستگاه آون تحت خلاء محصول شرکت Memert آلمان بوده که در دمای 60 درجه سلسیوس و فشار 70 میلی‌بارعمل خشک کردن تا رسیدن به رطوبت 5درصد تکمیل گردید.

محتوای رطوبتی

محتوای رطوبت نمونه‌ها از طریق خشک کردن آن‌ها در آون هوای داغ در دمای 1±105درجه سلسیوس، تا رسیدن به وزن ثابت انجام شد (AOAC, 1990). محتوای رطوبتی از روابط (1) و (2) محاسبه گردید.

$$W = \frac{(w_0)}{(wt)} \times 100 \qquad (1)$$

wt= وزن کل نمونه قبل از خشک شدن

w_0= وزن نمونه بعد از خشک شدن و رسیدن به وزن ثابت

$$S = 100 - W \qquad (2)$$

S= درصد ماده خشک و W= درصد رطوبت

پس از تعیین محتوای رطوبتی نمونه‌ها در مرحله خشک شدن تحت خلاء(اندازه‌گیری محتوای رطوبتی نمونه‌ها بعد از پایان اسمز و قبل از قرار گرفتن در آون خلاء و در طول مدت خشک شدن در آون خلاء) ، نمودار نسبت رطوبت در نرم‌افزار اکسل، رسم وزمان خشک شدن نمونه‌های مختلف بدست آمد.

میزان خروج آب و نفوذ مواد جامد محلول در طی اسمز

خروج آب[1](WL) مقدار رطوبتی است که در طی فرایند از بافت محصول خارج شده و به داخل محلول اسمزی راه پیدا کرده است. عوامل اسمزی که از محلول اسمزی وارد بافت محصول می‌شود تحت عنوان جذب مواد جامد محلول طی اسمز[2](SG) تعریف می‌شود. برای محاسبه این دو کمیت از روابط(3) و (4) استفاده شد (Shulka and Singh, 2007).

$$WL = \frac{(W_0 - W_t) + (S_t - S_0)}{W_0} \times 100 \qquad (3)$$

$$SG = \frac{S_t - S_0}{S_0} \times 100 \qquad (4)$$

1 Water lose
2 Solid gain

W0= جرم اولیه نمونه (برحسب گرم)
Wt= جرم نمونه پس از پایان مرحله اسمز(برحسب گرم)
St= جرم خشک نمونه بعد از اسمز (برحسب گرم)
S0= جرم خشک نمونه قبل از اسمز (برحسب گرم)

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

روش اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این مطالعه، روش Cemeroglu (2010)، بود. بدین منظور که در داخل 5 لوله‌ی آزمایش 600 میکرولیتر از محلول DPPH[1]ریخته و به ترتیب مقادیر 100، 80، 60، 40، 20 میکرولیتر از عصاره اضافه شد و تمامی بالن‌ها با متانول به حجم 6 میلی‌لیتر رسانده شد. بالن حجمی ششم به‌عنوان بالن شاهد که حاوی 600 میکرولیتر محلول DPPH می‌باشد در نظر گرفته شد. جذب تمامی نمونه‌ها پس از 15 دقیقه نگهداری در دمای اتاق و محیط تاریک با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 517 نانومتر قرائت شدند (Cemeroglu, 2010). اسپکتروفتومتر یا طیف‌سنج دستگاهی است که شدت نور را به‌صورت تابعی از طول موج اندازه‌گیری می‌کند. این دستگاه روش تجزیه، دستگاهی است که در آن تابش الکترومغناطیسی در ناحیه مرئی و ماورابنفش جذب ماده می‌شود و از روی شدت جذب مقدار ماده تعیین می‌شود. نوع دستگاه اسپکتروفتومتر در این آزمایش مدل UNICO ، UV-2100 بود.

با استفاده از رابطه(5)، مقادیر درصد بازدارندگی (٪) محاسبه و سپس نمودار استاندارد درصد به حجم نمونه رسم شد و میزان EC50(میلی‌گرم ماده که می‌تواند 50 درصد از رادیکال‌های آزاد موجود را از بین ببرد) هر نمونه بدست آمد.

$$\text{درصدبازدارندگی} = \frac{(ADPPH - As)}{ADPPH} \times 100 \qquad (5)$$

As= میزان جذب نمونه در طول موج 517 نانومتر
ADPPH= میزان جذب محلول DPPH در طول موج 517 نانومتر

اندازه‌گیری اسید اسکوربیک

در این تحقیق اندازه‌گیری اسید اسکوربیک (ویتامین ث) توسط روش تیتراسیون با استفاده از معرف 2 و 6 دی‌کلرو فنل اندوفنل و رابطه(6)، محاسبه گردید (Cemeroglu, 2010). در نهایت مقدار اسیداسکوربیک به‌صورت میلی‌گرم بر صد گرم نمونه بر وزن خشک گزارش شد.

$$\text{میلی‌گرم اسید اسکوربیک در 100 گرم نمونه} = \frac{(V * f)}{M} \times 100 \qquad (6)$$

V= مقدار 2 و 6 دی‌کلرو فنل اندو فنل استفاده شده در تیتراسیون (برحسب میلی‌لیتر)
f= فاکتور 2 و 6 دی‌کلرو فنل اندو فنل، یعنی یک میلی‌لیتر 2 و 6 دی‌کلرو فنل اندو فنل معادل چند میلی‌گرم اسید اسکوربیک (برحسب میلی‌گرم)
M= وزن نمونه موجود در عصاره (برحسب گرم)

ارزیابی چروکیدگی

برای ارزیابی چروکیدگی محصول فراوری شده از روش جابه‌جایی سیال استفاده شد.طبق رابطه(7)، چروکیدگی تحت عنوان درصد تغییر حجم نمونه‌ی فراوری شده نسبت به نمونه‌ی خام تعریف می‌شود (یاسائی مهرجردی و همکاران، 1390). میزان جابجایی سیال (در این روش از تولوئن استفاده شده است) در پیکنومتر، حجم نمونه مورد نظر را نشان می‌دهد.

$$S\% = \frac{(Vi - V)}{Vi} \times 100 \qquad (7)$$

V_i = حجم نمونه قبل از خشک کردن(برحسب سانتی‌متر مکعب)
V= حجم نمونه بعد از خشک کردن(برحسب سانتی‌متر مکعب)
S% = چروکیدگی(برحسب درصد)

ارزیابی ویژگی‌های حسی

ارزیابی حسی بر اساس مقبولیت کلی رنگ، طعم، بافت، بو و شکل ظاهری محصول نهایی، به روش هدونیک پنج نقطه‌ای (کمترین امتیاز1-بیشترین امتیاز2) وبا استفاده از 30 نفر پانلیست انجام شد. جهت تغییر ذائقه پانلیست‌ها در بین نمونه‌ها از آب استفاده شد. در تجزیه و تحلیل داده‌ها هر10 پانلیست به عنوان یک تکرار محسوب شد (صداقت و حسینی، 1390).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده از طرح فاکتوریل کامل و در سه تکرار انجام و از نرم‌افزار Design Expert 7 استفاده شد. و کلیه نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل رسم گردید.

نتایج و بحث

3خروج رطوبت از بافت میوه طی اسمز(WL)

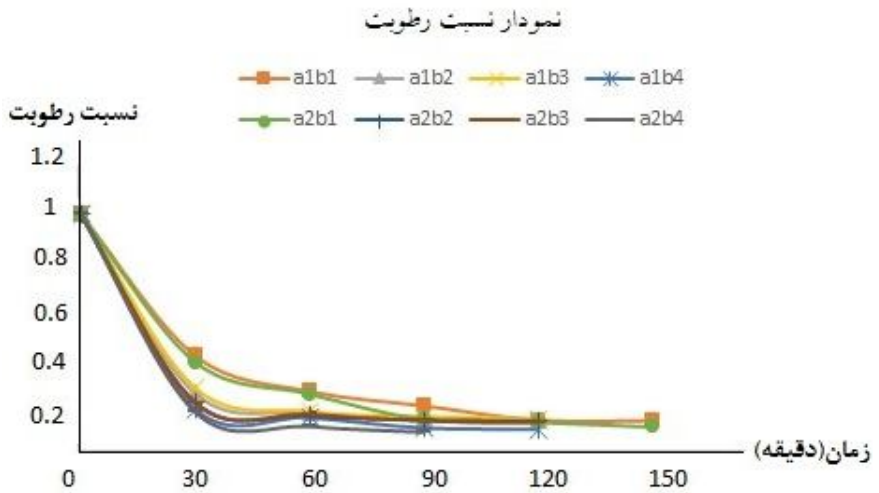
غوطه‌وری در محلول متابی‌سولفیت سدیم با سطح احتمال (0/0001>)، میزان خروج آب از بافت میوه را در طی اسمز افزایش داد. به‌نظر می‌رسد که متابی‌سولفیت سدیم با اثر بر ساختار سلولی بافت میوه، رفتار آن‌را در طی اسمز تحت تاثیر قرار می‌دهد. در واقع محلول گوگردی شدت انتشار را در طی اسمز افزایش می‌دهد. مطالعه شمایی و امام جمعه (1389)، Kotwaliwale و همکاران (2007) و

1 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

Karim (2010)، نتایج مشابهی در این زمینه نشان داد. همچنین بیشترین مقدار خروج آب از بافت میوه در محلول اسمزی ترکیب شکر و نمک مشاهده شد. نتیجه تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از مخلوطی شامل دو یا چند عامل اسمزی شدت خروج آب از بافت میوه را در طی اسمز افزایش می‌دهد. احتمالا علت آن افزایش فشار اسمزی در مقایسه با سایر محلول‌های اسمزی بوده است که انتقال آب بیشتری را در مقایسه با محلول ساده اسمزی به خارج بافت میوه سبب شده است. این نتیجه با نتایج Lerici وهمکاران (2006) و صوتی خیابانی(1381) مشابه بود. در این مطالعه نمونه غوطه‌ور شده در محلول متابی‌سولفیت سدیم و محلول اسمزی ترکیب شکر و نمک 30 تا 45 دقیقه زودتر از سایر نمونه‌ها به رطوبت 5 درصد در پایان مرحله خشک کردن رسید.

تغییر محتوای رطوبت نمونه‌ها در طی اسمز

شکل 1، تغییر محتوای رطوبت در نمونه‌های با پیش تیمارهای مختلف اسمزی تحت خلاء را نشان می‌دهد. بدیهی است که در تیمارهایی با میزان محتوای آب کمتر حاصل از فرایند اسمزی، سرعت خشک شدن تحت خلاء نیز افزایش می‌یابد. با توجه به نمودار، نمونه غوطه ور شده در محلول متابی‌سولفیت سدیم با پیش تیمار محلول اسمزی ترکیب شکر- نمک که دارای کمترین میزان محتوای رطوبتی می‌باشد زودتر از سایر تیمارها به رطوبت مطلوب 5درصد می‌رسد.



شکل1- افت رطوبت در نمونه‌های با پیش تیمارهای مختلف اسمزی تحت خلاء

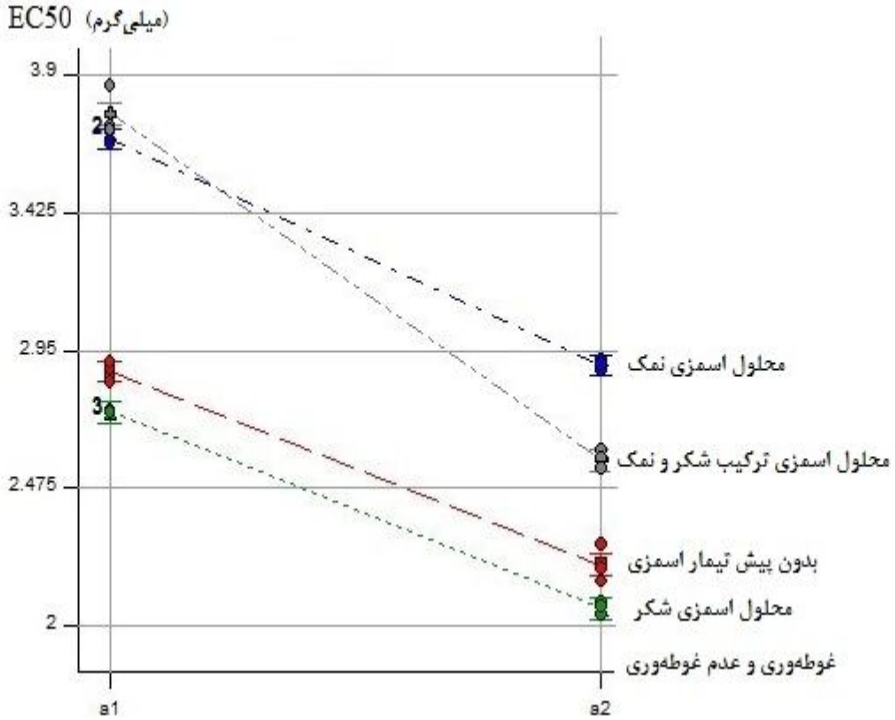
میزان EC50

شکل2، تغییرات EC50 نمونه‌های خشک شده را نشان می‌دهد. مقایسه محلول‌های اسمز نشان داد. که اختلاف معنی‌داری با سطح احتمال (0/0001>)، بین محلول‌های مختلف اسمزی وجود داشت. بطوری که پیش تیمار با محلول اسمزی شکر دارای کمترین میزان EC50 یعنی بالاترین توان آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. بیشترین مقدار EC50 یعنی کمترین میزان توان آنتی‌اکسیدانی، در تیمار بدون غوطه‌وری در محلول گوگردی و پیش تیمار محلول اسمزی نمک مشاهده شد.

مطابق شکل2، غوطه‌وری در محلول متابی‌سولفیت سدیم که در شکل این تیمار با حرف (a_2) نشان داده شده است توان آنتی‌اکسیدانی نمونه را افزایش داده یعنی میزان (EC50) را کاهش داده است. دلیل این امر بر مبنای خاصیت آنتی‌اکسیدانی متابی‌سولفیت سدیم استوار است. از آنجایی که متابی‌سولفیت سدیم یک احیاکننده شیمیایی می‌باشد به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مصنوعی در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (نیکخواه و همکاران، 1389). پیش تیمار اسمزی شکر دارای بیشترین توان آنتی‌اکسیدانی (کمترین EC50) و پیش تیمار اسمزی ترکیب شکر و نمک دارای کمترین توان آنتی‌اکسیدانی (بیشترینEC50)بود. میزان EC50 نمونه شاهد (بدون پیش تیمار اسمز) در مقایسه با محلول‌های اسمزی نمک و ترکیب شکر و نمک نشان می‌دهد پیش تیمار اسمز باعث خروج برخی مواد آنتی‌اکسیدانی (مثل اسید اسکوربیک) از بافت میوه شده است و از آنجاییکه شدت اسمز در محلول ترکیب شکر و نمک بیشتر از سایر محلول‌ها بوده توان آنتی‌اکسیدانی در این محلول‌ها کاهش یافته است. این نتیجه با نتایج مطالعه Lerici و همکاران (2006)، مطابقت دارد. وی علت افزایش EC50، در محلول اسمزی نمک و ترکیب شکر و نمک را افزایش فشار اسمزی بوجود آمده توسط تشدیدکننده انتشار (نمک)، در محلول‌های ذکر شده و خروج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از بافت لیمو ترش مطرح کرده است.

علت افزایش توان آنتی‌اکسیدانی لیموترش‌های خشک شده با

پیش تیمار اسمزی شکر را می‌توان به پایداری دیواره سلولی در طی اسمز (حفظ ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) و ضخیم شدن دیواره سلولی نسبت داد. طبق یافته‌های محققان در اثر جذب ساکارز توسط ترکیبات سلولز، مواد پکتیکی و سایر پلی‌ساکاریدها دیواره سلولی ضخیم می‌شود در نتیجه مقدار خروج مواد مغذی در طی اسمز به کمترین مقدار می‌رسد (Lynch *et al*,. 2011). همچنین Nieto و همکاران (1998)، نتایجی مشابه در این زمینه اعلام کرده‌اند، طبق مطالعه ایشان پیش تیمار با محلول اسمزی قندی سبب ایجاد خاصیت ویسکوالاستیک در ساختار سلولی بافت میوه شده و مقاومت بافت را در از دست دادن مواد مغذی افزایش می‌دهد.



شکل2- اثرمتقابل غوطه‌وری در محلول متابی سولفیت سدیم و پیش تیمار با محلول اسمزی برEC50

اسید اسکوربیک

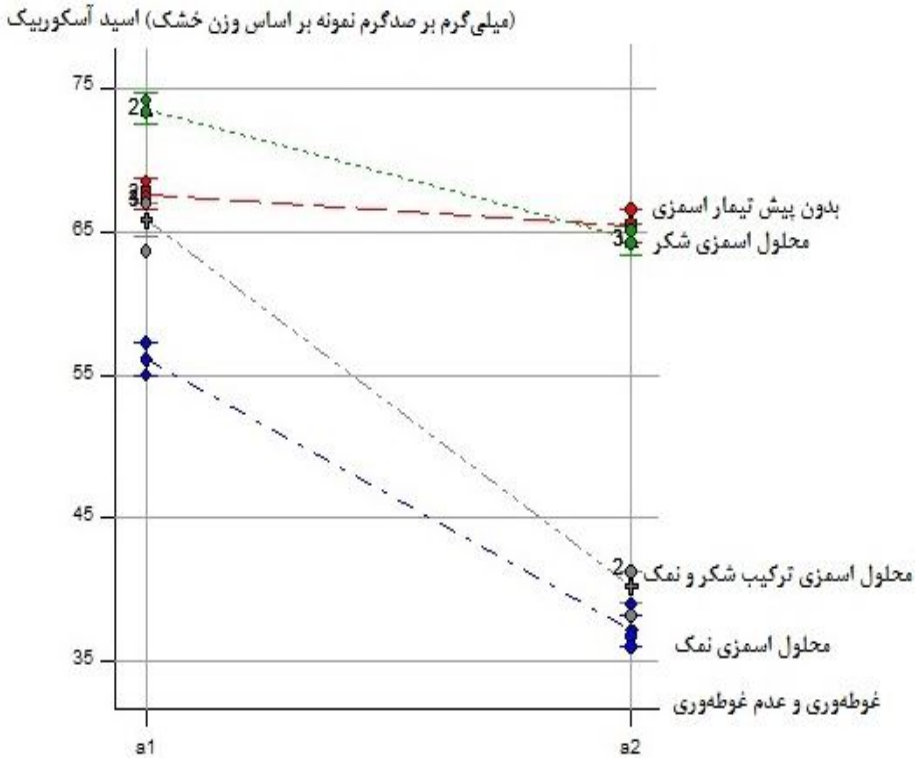
مطابق نتایج آزمایشات و طبق جدول2، اثرات مستقل و اثرات متقابل فاکتور غوطه‌وری و عدم غوطه‌وری در محلول متابی‌سولفیت سدیم و پیش تیمار با محلول‌های متفاوت اسمزی در سطح اطمینان 99%، (P≤0/01) معنی‌دار بوده و بیشترین اثر به ترتیب مربوط به غوطه‌وری در متابی سولفیت سدیم(A) و پس از آن مربوط به پیش تیمار اسمزی (B) می‌باشد.

جدول 2- نتایج تجزیه واریانس (ANOVA) اثر تیمارهای مورد بررسی بر اسید اسکوربیک

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	احتمالF	احتمالP
متابی سولفیت سدیم	1	1171/87	710/57	< 0/0001
محلول‌های اسمزی	3	2068/84	418/15	< 0/0001
اثرات متقابل	3	42/20	97/46	< 0/0001

معنی‌دار بودن اثر فاکتور غوطه‌وری در محلول متابی‌سولفیت سدیم در میزان اسید اسکوربیک نمونه‌های خشک شده که در جدول 2، مشاهده می‌گردد به علت حلالیت این ویتامین در آب بوده و هنگام شستشوی نمونه‌ها برای حذف باقی مانده متابی‌سولفیت سدیم از سطح نمونه‌ها، کاهش می‌یابد. این نتیجه با نتایج تحقیق زیرجانی و توکلی‌پور (1389)، مطابقت دارد. طبق نتایج ایشان پیش تیمار با متابی‌سولفیت سدیم و سپس خشک کردن در آون، میزان اسید اسکوربیک را کاهش می‌دهد. از طرفی بررسی محلول‌های اسمزی نشان می‌دهد که محلول ترکیب شکر و نمک سبب افت قابل توجه اسید اسکوربیک نمونه‌ها می‌باشد. پیش تیمار اسمزی قبل از خشک

کردن سبب کاهش زمان خشک کردن شده ولی از طرفی سبب کاهش مواد مغذی محلول در آب نیز هست. پس بطور کلی در طی اسمز، برش‌های لیمو ترش درصدی از اسید اسکوربیک خود را از دست می‌دهند. این کاهش اسید اسکوربیک طبیعتا در محلول‌هایی که شدت اسمز در آن‌ها بیشتر است افزایش خواهد یافت. از طرف دیگر استفاده از شکر برای تهیه پیش تیمار اسمزی باعث ضخیم شدن دیواره سلولی و حفظ مواد مغذی در بافت میوه می‌شود. به‌علاوه افت قابل توجه میزان اسید اسکوربیک در نمونه‌های پیش تیمار شده با غوطه وری در محلول متابی‌سولفیت سدیم و محلول ترکیب شکر و نمک (a_2b_4) و محلول اسمزی نمک (a_2b_3) به دلیل افزایش فشار اسمزی سبب افت بیشتر میزان این ویتامین در این تیمارها (a_2b_3, a_2b_4)شده است و از آنجایی که اسید اسکوربیک ویتامین ناپایدار محلول در آب است این فرضیه را قوت می‌بخشد. همچنین بررسی تیمارهای حاوی ترکیب شکر و نمک (b_4) در مقایسه با تیمار اسمزی نمک (b_3) پایداری ویتامین C را در ساختار بافت میوه نشان می‌دهد. Nieto و همکاران (1998)، نیز نتایج مشابهی در این زمینه اعلام کرده اند. نمونه شاهد بدون پیش تیمار اسمزی به دلیل افزایش زمان خشک شدن در آون، میزان اسید اسکوربیک کمتری نسبت به نمونه پیش تیمار شده با محلول اسمزی شکر داشت. به‌نظر می‌رسد افزایش زمان خشک شدن باعث کاهش میزان اسید اسکوربیک در این نمونه ها شده است (Karim and Adebowale , 2009). شکل3، معنی‌دار بودن اثر فاکتور غوطه‌وری در محلول متابی‌سولفیت سدیم در میزان اسید اسکوربیک نمونه‌های خشک شده را نشان می‌دهد.



شکل3- اثر متقابل غوطه‌وری در محلول متابی‌سولفیت سدیم و نوع محلول اسمزی بر میزان اسید اسکوربیک

میزان جذب مواد جامد محلول

جذب مواد جامد محلول در طی اسمز به میزان زیادی به وزن مولکولی مواد جامد حل شده در محلول اسمزی بستگی دارد به‌طوری که مواد جامد حل شده با وزن مولکولی کم‌تر بیشتر وارد بافت میوه می‌شود. شکل 4، میزان جذب مواد جامد محلول طی اسمز را نشان می‌دهد.

مقایسه محلول‌های اسمز نشان داد پیش تیمار با محلول اسمزی ترکیب شکر- نمک (b_4) دارای بیشترین مقدار جذب مواد جامد توسط بافت در طی اسمز می‌باشد. محلول‌های اسمزی حاوی ترکیبی از عوامل اسمزی سبب افزایش فشار اسمزی در مقایسه با سایر محلول‌های اسمزی شده و مواد جامد بیشتری وارد بافت میوه می‌شود. در مطالعه Araujoو همکاران (2012)، نیز میزان جذب مواد جامد توسط نمونه‌هایی که با محلول اسمزی ترکیب شکر و نمک تیمار شدند، بیشترین مقدار را داشت.

شکل 4- میزان جذب مواد جامد محلول

چروکیدگی

با ورود ماده جامد به داخل بافت و افزایش مقاومت مکانیکی بافت سلولی نمونه، از چروکیدگی بیشتر جلوگیری شده و محصول نهایی از لحاظ شکل ظاهری به نمونه تازه اولیه نزدیک می‌شود (Nieto *et al*,. 2004). نتایج بررسی نشان داد میزان چروکیدگی با سطح احتمال (0/0001>)، در تیمار اسمزی ترکیب شکر و نمک (b_4)، کمتر از بقیه تیمارهای اسمزی بود. به‌نظر می‌رسد این کاهش به دو دلیل رخ داده است. علت اول ورود مواد جامد محلول بیشتری به داخل بافت در مقایسه با سایر تیمارها و کاهش رطوبت بوده است، چنانکه طبق نتایج مطالعه Frrando و Spiess (2003)، افزایش فشار اسمزی محلول، به دلیل جانشین شدن آب خارج شده از بافت میوه با مواد جامد جذب شده، چروکیدگی سلول‌ها را کاهش می‌دهد و با توجه به افزایش شدت اسمز در محلول اسمزی ترکیب شکر و نمک مواد جامد بیشتری به داخل بافت نفوذ می‌کند و چروکیدگی کاهش می‌یابد. نتایج مشابهی در تحقیق صوتی خیابانی و همکاران (1381) نیز دیده می‌شود. همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تیمار اسمزی ترکیب شکر و نمک (b_4) سرعت خشک شدن بیشتری نسبت به سایر تیمارها (شیب 0/8304) و سپس پیش تیمار اسمزی شکر(b_2) سرعت خشک شدن بیشتری نسبت به محلول اسمزی نمک(b_3) داشت. علت دوم کاهش زمان خشک شدن به دلیل استفاده از پیش‌تیمار اسمزی قبل از خشک کردن در آون بوده که کاهش چروکیدگی محصول خشک شده را در پی داشته است. Emamjomeh و همکاران (2008)، طی مطالعه‌ای اثر سرعت خشک شدن بر میزان چروکیدگی محصول را بررسی کرده و نتایج مشابهی بدست آوردند که طبق آن، از دست دادن آب اسمزی قادر به کاهش زمان خشک شدن است که منجر به کاهش چروکیدگی می‌شود.

ارزیابی ویژگی‌های حسی

طبق نتایج بدست آمده تفاوت معنی‌داری در بافت لیموترش‌های خشک شده دیده نمی‌شود. همچنین چون آون مورد استفاده در این تحقیق آون تحت خلاء بوده تغییرات رنگ در نمونه‌های خشک شده معنی دار نبود. چون مدت زمان خشک شدن در صورت استفاده از آون تحت خلاء در مقایسه با سایر روش‌ها کمتر است این در صورتی است که افزایش زمان خشک کردن تغییرات رنگ محصول را در پی خواهد داشت (فرحناکی و همکاران، 1388). خشک کردن تحت خلاء با کاهش مدت زمان خشک شدن سبب حفظ رنگ محصول می‌گردد (شمایی و امام جمعه، 1389). چنانکه جدول3، نیز نشان می‌دهد محلول اسمزی با سطح احتمال(0/0001>) معنی‌دار بوده اما اثر غوطه‌وری در محلول متابی سولفیت سدیم معنی دار نیست.

جدول 3- نتایج تجزیه واریانس (ANOVA) اثر تیمارهای مورد بررسی بر ویژگی‌های حسی

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	احتمالF	احتمالP
متابی سولفیت سدیم	1	0/029	0/26	0/6164
محلول‌های اسمزی	3	3/06	27/69	< 0/0001
اثرات متقابل	3	0/093	0/84	0/4911

همچنین مقبولیت کلی بیشتر با صفت طعم تغییر می‌کند. زیرا بیشترین تفاوت در امتیازها مربوط به طعم محصول بوده است. از آنجا که محلول اسمزی به طور مستقیم بر طعم نهایی بافت تاثیر می‌گذارد انتخاب محلول اسمزی مناسب نقش عمده‌ای در تعیین ویژگی حسی قابل قبول را دارا می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با در نظر گرفتن تمامی پارامترها، یعنی نمونه‌هایی که دارای کمترین میزان EC50 وچروکیدگی و بیشترین میزان اسید اسکوربیک و بهترین ویژگی حسی بوده‌اند. تیمار،غوطه وری در محلول متابی‌سولفیت سدیم و پیش تیمار اسمزی شکر (a_2b_2) مناسب‌ترین تیمار این مطالعه می‌باشد

منابع

AOAC. 1990, Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, International, Fruits and Fruits Products. *Washington*, USA, 829-830.

Araujo, P.M., Fonesca, J.R.L., Magalhaes, M.M.A. and Medeiros, M.F.D., 2012, Drying of carrots in slices with osmotic dehydration, *African journal of biotechnology*, 13(30): 3061- 3067.

Arevalo Pinedo, A. and Xidieh Murr, F., 2007, Influence of pre-treatments on the drying kinetics during vacuum drying of carrot and pumpkin, *Journal of Food Engineering*, 80: 152–156.

Campelo, L.M.L., Almeida, A.A., Freitas, R.L.M., Cerqueira, G.S., Sousa, G.F., Saldanha, G.B., Feitosa, C.M. and Freitas, R.M., 2011, Antioxidant and Antinociceptive Effects of Citrus Limon Essential Oil in Mice. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, doi:10.1155/2011/678673.

Cemeroglu, B., 2010, Gidalara uygulanan bazi ozel analiz yontemleri. Gida analizleri, 91-93, Gida Teknolojisi Dernegi *Yayinlari*. Ankara.

Changrue, V. and Orsat, V., 2009, Osmotically dehydrated microwave vacuum drying of carrots, *Canadian Biosystems Engineering*, 51: 311- 315.

Emamjomeh, Z., Tahmasbi, M., Pirouzifard, M.KH. And Asghari, GH.R. 2008. Study on the effect of osmotic pretreatment on the structural and microstructure properties. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 1(39): 133-139.

Emamjomeh, Z. and alaedini, B., 2005, Quality improvement and formulation with osmotic dehydration pretreatment kiwifruit, Iranian journal of agriculture science, 6(36): 1421-1427.

Farahnaki, A., Askari, H. and Mesbahi, GH, 2009, the use of digital imaging for evaluating color changes of rutab during drying in a cabinet drier, Iranian journal of food science and technology, 2(6): 43-52.

Ferrando, M. and Spiess, W.E.L., 2003, Mass Transfer in Strawberry Tissue during Osmotic Treatment II: Structure□function Relationships, *Journal of Food Science*, 68(4): 1356-1364.

Garcia-Salas, P., Gomez-Caravaca, A.M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Guerra-Hernandez, E., Garcia-Villanova, B. and Fernández-Gutiérrez, A., 2013, Influence of technological processes on phenolic compounds, organic acids, furanic derivatives, and antioxidant activity of whole-lemon powder, *Food Chemistry*, 141: 869–878.

Harati, A., Fatemian, H., Hosseini, E., Asadi, Gh.H. and Darvish, F., 2011. An Investigation of Mass Transfer Phenomena during Osmotic Dehydration of Orange Slices. *International Journal of Agricultural Science and Research*, 2(3): 1- 10.

Karim, O.R., 2010, Effect of sulphiting and osmotic pretreatment on the effective moisture diffusion coefficients Deef of air drying of pineapple slices, Department of home economics and food science, university of Ilorin, Ilorin,Nigeria, 10(10): 4168- 4184.

Karim, O.R. and Adebowale, A.A., 2009, a dynamic method for kinetic model of ascorbic acid degradation during air dehydration of pretreated pineapple slices, *International Food Research Journal*, 16: 555-560.

Kotwaliwale, N., Bakane, P. and Verma A., 2007, Changes in textural and optical properties of oyster mushroom during hot air drying, *Food Engineering*, 78: 1207-1211.

Lerici, C.R., Pinanavaia, G., Dalla Rosa, M. and Bartolucci, L., 2006, Osmotic dehydration of fruit: influence of osmotic agents on drying behavior and product quality, *Journal of Food Science*, 50(5): 1217-1219.

Lynch, P., Siddika, A., Johnston, J., Trigwell, S.M., Mehra, A., Benelli, C., Lambadri, M. and Benson, E., 2011, Effects of osmotic pretreatments on oxidative stress, antioxidant profiles and cryopreservation of olive somatic embryos, *Plant Science*, 181: 47-56

Marfil, P.H.M., Santos, E.M. and Telis, V.R.N., 2008, Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions, *LWT Food Science and Technology*, 41: 1642-1647.

Mirzaei, A., Mohammadi, J., Mirzaei, N. and Mirzaei, M., 2011, the antioxidant capacities and total phenolic content of some medicinal plants in Iran, Journal of fasa university of medical sciences, 1(3): 160-167.

Nieto, A. B., Salvatori, D. M., Castro, M. A. and Alzamora, S. M., 2004, Structural changes in apple tissue during glucose and sucrose osmotic dehydration: Shrinkage, porosity, density and microscopic features, *Journal of Food Engineering*, 61: 269-278.

Nieto, A. B., Salvatori, D. M., Castro, M. A. and Alzamora, S. M., 1998, Air drying behavior of apples as affected by blanching and glucose impregnation, *Journal of Food Engineering*, 36: 63-79.

Nikkhah, E., Khayyami. M. and Heidari, M., 2012, Effect of some chemicals on stability of anthocyanins from blackberry (Morus nigra), Iranian journal of biology, 1(25): 32-43.

Phisut, N., 2012, Factors affecting mass transfer during osmotic dehydration of fruits, International Food Research Journal, 19(1): 7-18.

Rehman, Z., 2006, Citrus peel extract – A natural source of antioxidant. Food Chemistry, 99(3): 450-454.

Sedaghat, N, and Hosseini, f., 2010, Evaluation of physicochemical and sensory properties of pet containers packed lemon juice, Iranian journal of food science, 1(8): 93-100.

Shamayi, S. and Emamjomeh, Z., 2005, the effect of pretreatments in combination with hot air. Vacuum and hot a microwave drying methods the progress of the drying process and textural, and colour and rehydration rate on button mushroom (agaricus bisporus), Iranian food science and technology research journal, 3(6): 193-200.

Shulka, B. D. and Singh, S. P., 2007, Osmo-Convective drying of cauliflower, mushroom and greenpea, *Journal of food Engineering*, 80:741-747.

Stojanovic, J. and Silva, J., 2007, Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, colour and chemical properties of rabbiteye blueberries. *Food Chemistry*, 101: 898–906.

Soleimani, J., Emamjomeh, Z. and Ghasemzadeh, H., 2006, Osmotic dehydration pretreatment for air-dried carrot, Quarterly pajouhesh-va-sazandegi, and 78: 101-109.

Sovtikhiyabani, M., Sahri, M., Emamjomeh, Z., 2003, optimizing the production process of peach slice by osmosis, Iranian journal of agriculture science, 34(2): 283-291.

Yasaei Mehrjerdi, P., Ghiasi Tarzi, B., Basiri, A.R., Bameni Moghaddam, M. and Esfandiari, C., 2011, Optimaztion of processing conditions in vacuum frying of pumpkin (Cucurbita Moschata Duch), Innovation in food science and technology, 3(3): 61-69.

Zirjani, L. and Tavakoli pour, H., 2010, the effect of different pretreatments in drying process of banana using microwave, Innovation in food science and technology, 2(1): 53-64.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 480-490

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 490-480

Effect of sodium metabisulphite and osmo dehydrated pretreatment on physicochemical and organoleptic characteristics of vaccum dried citrus lemon (shirazi) slice

A. Falaki[1], N. Asefi[2*]

Received: 2015.10.28
Accepted: 2016.06.05

Introduction: Nutrition research on the health benefits of substances in plant foods (phytochemicals) has recently advanced to a new stage, as ascorbic acid, these phytonutrients is abundant in citrus fruit, and all show physiologic actions that may contribute to cancer prevention. Citrus lemon is an important source of this nutritional qualityand it has low durability due to its high water content (87%). Therefore, some practical solutions such as drying could help to increase their sustainable necessary for improve production. Different drying methods have considerable impact on the quality of final product. Vacuum drying can preserved nutrients and increased the nutritional quality of the final product. This behavior could be related to drying process at low temperatures in the absence of oxygen. In vacuum drying, removal of moisture from food products takes place under low pressure. The lower pressure allow drying temperature to be reduced and higher quality to be obtained than with classical air conventional process at atmospheric pressure. Osmotic dehydration can be used to remove water from heat-sensitive products with low energy consumption at a low temperature. Since osmotic dehydration cannot remove whole moisture but it is good as a preliminary partial dehydration step. Higher osmotic concentration, long time and oxygen resulted in higher loss of antioxidant activity but fit osmotic concentration and time. The osmotic process has received considerable attention as a pre-treatment to reduce energy consumption and improve food quality, besides reducing the drying time in different research studies. The osmotic dehydration as a pre-treatment also inhibits enzymatic growing, retains natural color and retains volatile aromas during the subsequent drying. Sodium metabisulphite is an inorganic compound. It is used as antioxidant (through oxidation prevention) and preservative agent. The purpose of this study was to quantify the flow of soluble micronutrients, such as ascorbic acid, antioxidant agent during osmosis and its effects on the changes of organoleptic characteristics (flavor, taste, color and texture) in final product.

Materials and method: In this study, lemons (shirazi) of uniform quality were purchased from the local market Tabriz city (Iran) and stored at 4ºC then the local temperature reached before use. The prepared slices of lemon with a thickness of 4 mm, were immersed in a solution of sodium metabisulphite (1500ppm) for 10 minutes at room temperature. Then, the influence of three different osmotic solution, (40 % sugar, 15 % salt and 20%:%20 sugar/ salt) on osmotic dehydration (water loss and solid gain) prior to vacuum drying oven (Memmert, Schwabach, Germany) at temperature: 60C and pressure: 70mbar, were investigated the (Shulka and Singh, 2007) method. Moisture content was determined by the oven drying method (AOAC, 1990). The effects of various drying parameters such as osmotic solution and metabisulphite treatment on the quality of dried lemon slices were evaluated. Drying kinetics were presented in terms of the temperature of the product during drying, drying curve and drying time and quality aspects were studied in terms EC50 by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl absorption rate in spectrophotometer method (Cemeroglu, 2010), ascorbic acid by the 2, 6-dichlorophenol Indophenol titration method (Cemeroglu, 2010), shrinkage by the fluid movement (by ethanol) method (yasaemehrjerdi et al, 2012), and sensory evaluation by the ratings table method. Also the experiment was conducted according to a completely randomized design in triplicates. Data were evaluated by analysis of variance (ANOVA), using Design Expert software, and version dx7-trial .

Result & discussion: The result showed that the pretreatment with osmotic solution, has significant effect (level 1%) on physicochemical and organoleptic characteristics. In this study, shrinkage levels were reduced to an average of 20 percent because of the evolution of volume of dried lemon tissue throughout osmotic dehydration in osmotic aqueous solution were closely supported by microstructural and ultrastructural changes.

1 And 2. M.Sc Graduate and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
(Corresponding author's Email: n.asefi@iaut.ac.ir)

The observed behavior of structural parameters could be partially explained in terms of the multicomponent diffusion process occurring during osmosis as well as the relaxation of structural stresses of the compressed viscoelastic cell walls. Water loss in samples immersed in sodium metabisulphite was increased, while EC50 (reduced EC50 amount that's mean increased antioxidant capacity) and that ascorbic acid content were decreased. Also combined osmotic solution (salt 20%- sugar 20%), considerable in water loss and solid gain due to the combined osmotic solution were increased. Mass transfer in samples was increased by increasing the osmotic pressure using salt. The sugar solution can be preserved fruit nutrients and increased the sensory quality of the final product through preserved antioxidant capacity and ascorbic acid content. model presented the best fit for the observed data and sample immersion in sodium metabisulphite with sucrose osmotic solution selected. Since, changing the original taste of fruit in osmotic dehydration considered to be a negative factor. Therefore, the selection of the best solution must be based on the sensory properties. Based on the obtained results, the best osmotic solution for dried lemon was found to be the sugar solution.

Key Words: Citrus lemon, Osmotic, Sodium metabisulphite, Vacuum drying

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 491-502

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 502-491

بهینه‌یابی بازیافت نیتروژنی در آبکافت آنزیمی پروتئین سر و بازوی ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) با استفاده از آنزیم آلکالاز

کیوان علی عسگری[1]- سکینه یگانه[2*]- سید علی جعفرپور[2]- رضا صفری[3]

تاریخ دریافت: 1394/08/11
تاریخ پذیرش: 1395/02/11

چکیده

این پژوهش با هدف بهینه‌سازی بازیافت نیتروژنی پروتئین آبکافت‌شده از سر و بازوی ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) با استفاده از آنزیم آلکالاز صورت پذیرفت. جهت بهینه‌سازی شرایط تولید پروتئین آبکافت‌شده از روش سطح پاسخ (RSM) بر اساس طرح باکس-بنکن استفاده شد. در این مطالعه، اثر سه فاکتور نسبت آنزیم به سوبسترا، دما و pH روی بازیافت نیتروژنی به‌عنوان سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. مدل ریاضی، برازش خوبی با داده‌های آزمایش داشت، زیرا R^2 معادل 0/96 نشان داد که قسمت عمده تغییرات درون محدوده آزمایش توسط مدل، قابل توضیح است. براساس نتایج به‌دست‌آمده، شرایط بهینه عبارت بودند از دمای 52/69 درجه سانتی‌گراد، pH: 8/50 و نسبت آنزیم به سوبسترای 1/92 درصد، که منجر به بازیافت نیتروژنی معادل 36/89 درصد گردید. عدم معنی‌داری در فاکتور فقدان برازش در این مطالعه نیز گواهی بر قابلیت مدل در پیش‌بینی دامنه‌های مورد استفاده در این آزمایش می‌باشد. بررسی ترکیب آمینواسیدی پروتئین آبکافت‌شده حاصل از شرایط بهینه سر و بازوی ماهی مرکب ببری نشان داد که این پروتئین دارای ارزش غذایی بالایی است. شاخص شیمیایی پروتئین آبکافت‌شده‌ی سر و بازوی ماهی مرکب نیز نشان داد که این پروتئین دارای مقادیر بالای اسیدهای آمینه ضروری است و نیاز یک انسان بالغ را به اسیدهای آمینه ضروری (پروتئین استاندارد FAO/WHO) برآورده می‌کند، اما در مقایسه با نیازهای ماهی کپور (پروتئین استاندارد NRC)، از نظر اسیدهای آمینه فنیل‌آلانین و ترئونین، محدودکننده می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آبکافت، آلکالاز، بازیافت نیتروژنی، بهینه‌یابی، ماهی مرکب

مقدمه

ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) گونه غالب رده سرپایان در آب‌های جنوب کشور است. این گونه از ماهیان مرکب، در ایران در آب‌های خلیج فارس و دریای عمان و در سراسر آب‌های جنوب کشور از استان سیستان و بلوچستان در شرق تا استان خوزستان در غرب پراکندگی دارد (ولی‌نسب، 1378). بر اساس آمار FAO میزان صید آن در ایران 5102 تن در سال می‌باشد (FAO, 2013). با مطالعات انجام‌شده از سال 1370، ماهی مرکب ببری به‌عنوان یک گونه‌ی آبزی جدید قابل استحصال صادراتی، به جامعه‌ی شیلات معرفی گردید (ولی‌نسب، 1378). در هنگام فرآوری حدود 35-30 درصد از محصول تبدیل به ضایعات (سر، بازوها و...) می‌شود که به‌عنوان منابع کم‌ارزش شناخته شده و دفع نامناسب آن باعث آلودگی زیست‌محیطی می‌گردد. از طرفی بسیاری از این مواد، منابع غنی از ترکیبات با ارزش از جمله پروتئین‌ها محسوب می‌شوند (Ovissipour *et al*., 2009a; Ahmad *et al*., 2011). امروزه بکارگیری روش‌های جدید فرآوری جهت تبدیل گونه‌های کم‌مصرف و محصولات فرعی به محصولات مفید و قابل عرضه در بازار مورد توجه قرار گرفته است. یکی از گزینه‌ها برای جلو گیری از دور ریختن این ضایعات، تولید پودر پروتئین با استفاده از آبکافت آنزیمی برای مصرف انسانی در سیستم غذایی و یا با توجه به محتوای نیتروژنی آن، استفاده از آن برای تهیه محیط کشت میکروبی می‌باشد.

با توجه به اینکه ویژگی‌های پروتئین آبکافت‌شده با توجه به نوع سوبسترا، نوع و میزان آنزیم و شرایط آبکافت متفاوت می‌باشد (Kristinsson & Rasco, 2000)، بهینه‌سازی شرایط تولید پروتئین آبکافت‌شده می‌تواند باعث صرفه‌جویی در هزینه و میزان آنزیم مورد استفاده گردد. روش‌های آماری از قبیل روش سطح پاسخ جهت بهینه‌یابی در فرآیندهای آنزیمی به‌ویژه در صنایع غذایی (Surowka & Fik, 1992) به‌کار گرفته شده است (Haltrich *et al*., 1994).

1و 2- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری.
3- مربی پژوهشی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری.
(* - نویسنده مسئول: Email: skyeganeh@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.51100

نوع فرایند باید در کیفیت و ارزش غذایی محصول نهایی در توسعه‌ی محصولات غذایی جدید در نظر گرفته شود، برای مثال در مورد آبکافت پروتئین ماهی، درجه‌ی آبکافت بالا باعث ایجاد تلخی در محصول تولیدی می‌شود (Quaglia & Orban, 1987; Martin & Porter, 1995)، بنابراین درجه‌ی آبکافت لزوماً تنها یا بهترین پارامتر جهت بهینه‌سازی فرایند در نظر گرفته نمی‌شود (Diniz & Martin, 1997). بازیافت نیتروژنی یکی از فاکتورهای مهم در بررسی عملکرد آنزیم‌ها در آبکافت پروتئین‌های غذایی محسوب می‌شود که بیان-کننده توانایی یک آنزیم در جداسازی پروتئین‌های محلول از نامحلول، و در نتیجه میزان بازدهی فرآیند در طی آبکافت آنزیمی بوده که از جنبه اقتصادی نیز مهم می‌باشد (اویسی پور و همکاران.، 1389؛ Liaset *et al*., 2000; Guerard *et al*., 2002). به‌همین منظور، تحقیق حاضر با هدف بهینه‌سازی شرایط (نسبت آنزیم به سوبسترا، دما و pH) تولید پروتئین آبکافت‌شده از سر و بازوی ماهی مرکب، به‌منظور به‌دست آوردن بیشترین بازیافت نیتروژنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) از بازار فروش ماهی واقع در شهرستان کنگان استان بوشهر خریداری و شسته شد و در فریزر در دمای 18- درجه سانتی‌گراد منجمد شد. سپس در کنار یخ به پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ساری انتقال داده شد و تا شروع آزمایشات در دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. به‌منظور آبکافت آنزیمی، از آنزیم آلکالاز با فعالیت آنزیمی 2/4 آنسون به ازای هر میلی‌لیتر آنزیم استفاده شد. آنزیم مورد استفاده از شرکت نووزایم[1] (دانمارک) خریداری و تا زمان شروع آزمایشات در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

تهیه‌ی پروتئین آبکافت شده

به‌منظور آماده‌سازی نمونه‌ها، ابتدا ماهی مرکب در دمای 4 درجه سانتی‌گراد انجمادزدایی شد. سر و بازوها پس از جداسازی، ابتدا چرخ شده، سپس با آب مقطر (نسبت 2:1 وزنی/ حجمی) مخلوط و با همزن به مدت 2 دقیقه هموژن شدند. این مخلوط سپس جهت غیرفعال‌کردن آنزیم‌های درونی در حمام آب گرم در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت20 دقیقه قرار داده شد (Ovissipour *et al*., 2012). نمونه‌ها بر اساس روش سطح پاسخ طرح باکس-بنکن، تیماربندی شدند (جداول 1 و 2) و در بن‌ماری شیکردار (W-614-B، فارتر ریز پرداز، تهران، ایران) در معرض آنزیم قرار گرفتند. نمونه‌ها در حمام آبی به مدت 15 دقیقه در دمای 90 درجه سانتی‌گراد به‌منظور غیرفعال‌سازی آنزیم آلکالاز قرار گرفتند، و سپس به‌منظور جداسازی مواد نامحلول از پروتئین‌های محلول توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار(Hermle labrotechnik GmbH Z-206A، آلمان)، در دمای 4 درجه سانتی‌گراد با دور 8000×g برای مدت 20 دقیقه سانتریفوژ شدند.

در نهایت جهت تایید شرایط پیشنهادی معادله ریاضی، پروتئین آبکافتی با ایجاد شرایط بهینه‌ی پیشنهادی توسط مدل، تولید و با روش خشک‌کردن انجمادی، خشک و پودر گردید.

بازیافت نیتروژنی

بازیابی پروتئین یا بازیافت نیتروژنی با استفاده از مقدار پروتئین به‌دست‌آمده از آبکافت به‌عنوان درصدی از مقدار اولیه‌ی پروتئین موجود در ترکیب واکنش، محاسبه شد (Ovissipour *et al*., 2012). برای تعیین میزان پروتئین نمونه اولیه از روش استاندارد استفاده گردید (AOAC, 2005). پروتئین محلول در سوپرناتانت به روش بیورت[2] اندازه‌گیری و محاسبه شد (Layne, 1957). میزان بازیافت نیتروژنی بر اساس معادله زیر به‌دست آمد:

(1) 100× (مقدار پروتئین موجود در پروتئین آبکافت شده /مقدار پروتئین اولیه)= بازیافت نیتروژنی

تعیین ترکیب اسیدآمینه

به‌منظور تعیین ترکیب اسیدآمینه کل، ابتدا 0/1 گرم نمونه پودر پروتئین حاصل از شرایط بهینه به مدت 24 ساعت در دمای 110 درجه سانتی‌گراد با استفاده از اسیدکلریدریک 6 نرمال آبکافت شد. بعد از پایان هضم و خروج از آون، حجم درون لوله‌ی هضم با آب مقطر به 25 میلی‌لیتر رسانیده شد. عمل مشتق‌سازی اسیدهای آمینه با استفاده از فنیل‌ایزوتیوسیانات به روش Heinrikson و Meredith (1984) انجام گردید.

میزان اسیدهای آمینه با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (کنوئر، آلمان) با استفاده از ستون C_{18} (5 میکرومتر، 250×4/6 میلی‌متر) با آشکارساز UV (کنوئر 2500) در طول موج 254 نانومتر و دمای 27 درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. فاز متحرک مورد استفاده شامل سه حلال A (0/05 مولار آمونیوم استات)، B (50:50 استو نیتریل آب در 0/1 مولار آمونیوم استات) و C (70:30 استونیتریل آب) و سرعت حرکت آن 1 میلی‌لیتر بر دقیقه بود. برای ارزیابی نتایج از استاندارد اسیدآمینه از شرکت (21 L-Amino acids + Fluka Glysine) و نرم‌افزار EZchrom Elite استفاده گردید.

1 Novozymes Co.

2 Biuret

اندازه‌گیری شاخص شیمیایی پروتئین

شاخص شیمیایی یک فراسنجه مهم برای تشخیص ارزش تغذیه‌ای پروتئین‌ها و مقایسه آن با پروتئین استاندارد می‌باشد. شاخص شیمیایی بر اساس میزان اسیدهای آمینه ضروری در پروتئین مورد آزمایش و میزان نیاز انسان (FAO/WHO, 1990) یا یک موجود آبزی (NRC, 1993) به اسیدهای آمینه، با استفاده از رابطه زیر محاسبه می‌شود. در این پژوهش شاخص شیمیایی با نیاز ماهی کپور ارزیابی گردید.

(2) میزان اسیدهای آمینه ضروری/میزان اسیدهای آمینه ضروری در پروتئین مورد آزمایش در پروتئین استاندارد = شاخص شیمیایی

نرخ کارایی پروتئین

برای اندازه‌گیری نرخ کارایی پروتئین از معادلاتی استفاده شد که توسط Alsmeyer و همکاران (1974) و Lee و همکاران (1978) گسترش یافته است (جدول6). با قراردادن مقادیر اسیدآمینه در هر یک از این معادلات نرخ کارایی پروتئین محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

بهینه‌سازی شرایط تولید پرتئین آبکافت‌شده، با استفاده از روش سطح پاسخ بر اساس مدل باکس- بنکن انجام گردید. طبق این مدل تعداد 15 تیمار (جدول 2) توسط نرم‌افزار Design Expert 7.0.0 پیشنهاد شد که در نقطه مرکزی آزمایش 3 بار تکرار شدند. سه متغیر مستقل نسبت آنزیم به سوبسترا (X_1)، دما (X_2) و pH (X_3) در سه سطح (1+، 0، 1-) مورد آزمایش قرار گرفتند. بازیافت نیتروژنی به‌عنوان پاسخ به متغیرها در نظر گرفته شد. پاسخ سیستم آزمایشی بر اساس معادله‌ی زیر انجام گرفت:

$$Y = \beta_o + \sum_{i=1}^{3}\beta_i X_i + \sum_{i=1}^{3}\beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i\neq j}\sum \beta_{ij} X_i X_j \qquad (3)$$

Y عبارت است از متغیر وابسته (بازیافت نیتروژنی)، β_0 و βi و βii و βij ثابت‌های برآوردشده توسط مدل هستند. X_i و X_j سطح متغیرهای مستقل بوده و آن‌ها به‌ترتیب نمایانگر اثرات خطی، درجه دوم و اثرات متقابل متغیرهای X_1، X_2 و X_3 روی پاسخ می‌باشند. این مدل اثر هر متغیر را روی پاسخ نشان می‌دهد.

جدول 1- متغیرهای مستقل و سطوح مورد استفاده در بهینه‌سازی آبکافت آنزیمی سر و بازوی ماهی مرکب با استفاد از روش سطح پاسخ

متغیرهای مستقل	علامت	سطوح و حدود متغیرها		
		+1	0	-1
نسبت آنزیم به سوبسترا (درصد)	X_1	2	1/5	1
دما (درجه سانتی‌گراد)	X_2	55	50	45
pH	X_3	8/5	8	7/5

نتایج و بحث

بهینه‌یابی مدل

داده‌های مربوط به بازیافت نیتروژنی به‌عنوان متغیر وابسته در جدول 2 نشان داده شده است. بیشترین میزان بازیافت نیتروژنی مربوط به تیمار شماره 14 بود (36/7 درصد) که در آن نسبت آنزیم به سوبسترا 2 درصد، دما 50 درجه سانتی‌گراد و pH: 8/5 و کمترین بازیافت نیتروژنی (27/07 درصد) مربوط به تیمار 12 با نسبت آنزیم به سوبسترا 1 درصد، دما 45 درجه سانتی‌گراد و pH:8 بود.

نتایج آنالیز واریانس اثرات عوامل مختلف شامل نسبت آنزیمی، دما و pH بر بازیافت نیتروژنی در جدول 3 نشان داده شده است.

آزمون ANOVA مشخص نمود که مدل چندجمله‌ای درجه دوم به اندازه کافی بیانگر پاسخ می‌باشد. پایین‌تر بودن مقدار احتمال مدل از 0/05، نشان از معنی‌داری مدل داشت و R^2 =0/9666 بیانگر این بود که مدل رگرسیون واکنش را به‌خوبی توضیح داده است. مناسب بودن مدل با استفاده از آزمون فقدان برازش[1] مورد بررسی قرار گرفت که معنی‌دار نبود (P>0/05). بنابراین این مدل جهت پیش‌بینی در دامنه متغیرهای مورد استفاده مناسب بود

ضرایب رگرسیونی چندگانه به‌منظور پیش‌بینی مدل چند جمله‌ای درجه دوم برای متغیر پاسخ بصورت زیر به‌دست آمد:

$$DH = 33/56 + 1/81\,(X_1) + 1/54\,(X_2) + 1/01\,(X_3) + 1/09\,(X_1 X_3) + 1/08\,(X_2 X_3) - 1/09\,(X_1^2) - 2/08\,(X_2^2) \qquad (4)$$

در مدل آزمایش، هر سه فاکتور به صورت مستقل، تاثیر بسیار معنی‌داری بر بازیافت نیتروژنی داشتند (P<0/01) و اثر متقابل آن‌ها در مورد نسبت آنزیم به سوبسترا و pH و همچنین دما و pH، معنی‌دار بود و اثر درجه‌ی دوم فقط در مورد pH معنی‌دار نبود (P>0/05)

جهت تعیین شرایط بهینه، نمودارهای سه‌بعدی و کانتر در شکل 1 ترسیم شد. در این اشکال که اثر متقابل دو متغیر را نشان می‌دهند، اثر متقابل نسبت آنزیم به سوبسترا و دما (شکل 1-الف) معنی‌دار نبود

1 Lack of Fit

(P>0/05) و اثر متقابل نسبت آنزیم به سوبسترا و pH (شکل 1-ب)
و اثر متقابل دما و pH (شکل 1-ج) معنی‌دار بود (P<0/05).

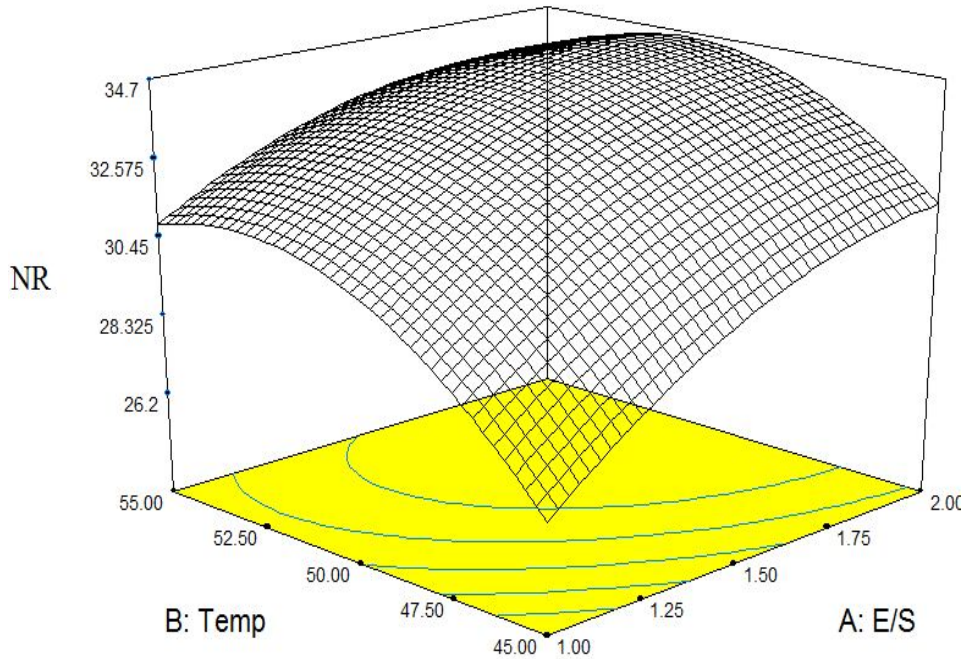
جدول 2- طرح آزمایشات بازیافت نیتروژنی سر و بازوی ماهی مرکب و مقدار بازیافت نیتروژنی واقعی و پیش‌بینی‌شده در طرح باکس-بنکن

تیمار	X_1 (آنزیم/سوبسترا)	X_2 (دما)	X_3(pH)	بازیافت نیتروژنی	
	1-2 (%)	45-55 (C)	7/5-8/5	آزمایش	تخمین
1	0	0	0	33/22	33/56
2	0	+1	+1	35/77	35/26
3	+1	+1	0	32/4	33/09
4	-1	0	+1	30/62	30/72
5	0	0	0	33/44	33/56
6	0	-1	+1	29/44	30/02
7	-1	0	-1	30/7	30/88
8	+1	0	-1	32/44	32/34
9	-1	+1	0	30/37	30/78
10	0	-1	-1	29/66	30/17
11	0	0	0	34/03	33/56
12	-1	-1	0	27/07	26/38
13	+1	-1	0	31/74	31/33
14	+1	0	+1	36/7	36/52
15	0	+1	-1	31/66	31/08

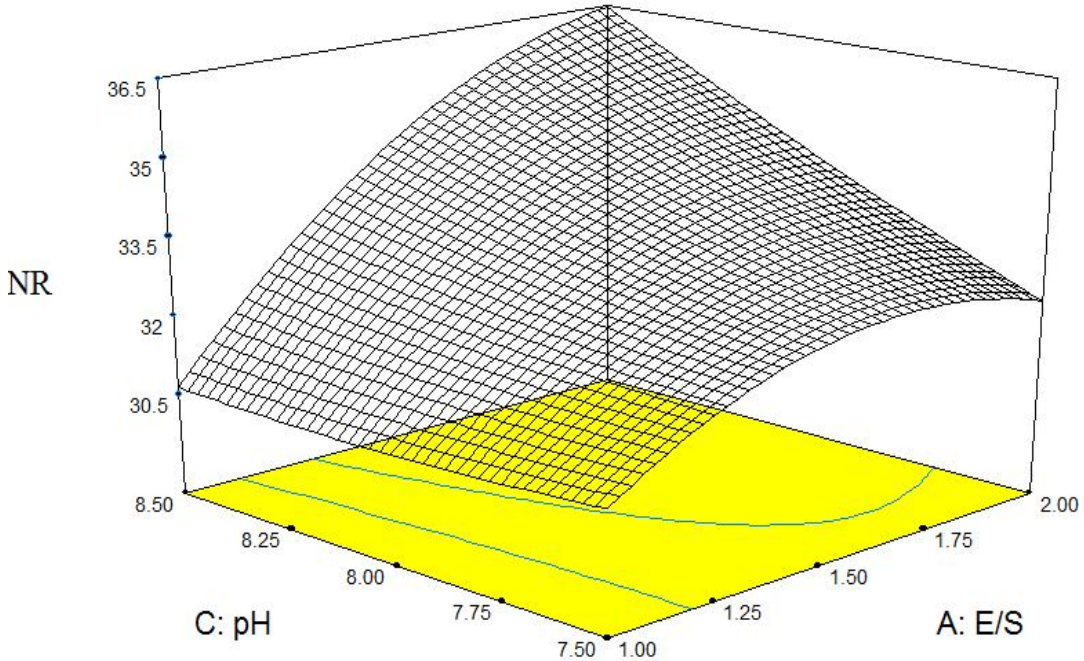
جدول 3- تجزیه و تحلیل واریانس (آنووا) مدل درجه دوم حاصل از سطح پاسخ جهت بازیافت نیتروژنی

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار p Prob> F
مدل	84/17	9	9/35	16/09	0/0035
X_1 (آنزیم/سوبسترا)	26/35	1	26/35	45/35	0/0011
X_2 (دما)	18/88	1	18/88	32/49	0/0023
X_3 (pH)	8/14	1	8/14	14/01	0/0134
X_1X_2	1/74	1	1/74	3/00	0/1439
X_1X_3	4/71	1	4/71	8/10	0/0360
X_2X_3	4/69	1	4/69	8/07	0/0362
X_1^2	4/41	1	4/41	7/59	0/0401
X_2^2	15/90	1	15/90	27/37	0/0034
X_3^2	0/077	1	0/077	0/13	0/7304
باقیمانده	2/91	5	0/58		
فقدان برازش	2/55	3	0/85	4/85	0/1756
خطای خالص	0/35	2	0/18		
کل	87/07	14			

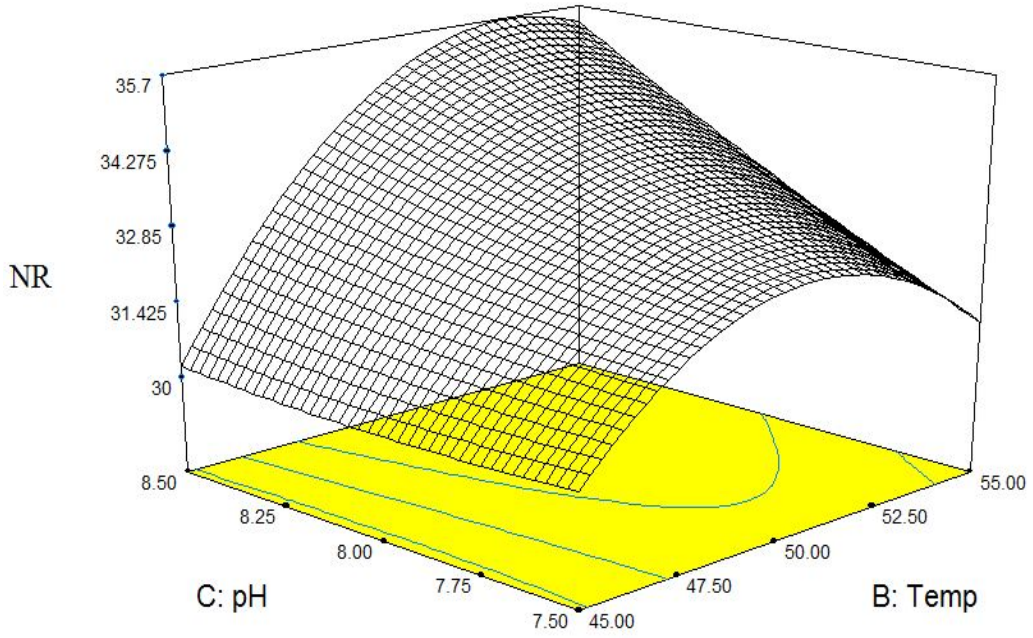
(الف)


34.7
32.575
30.45
28.325
26.2
NR
55.00
52.50
50.00
47.50
45.00
B: Temp
1.00
1.25
1.50
1.75
2.00
A: E/S

(ب)


36.5
35
33.5
32
30.5
NR
8.50
8.25
8.00
7.75
7.50
C: pH
1.00
1.25
1.50
1.75
2.00
A: E/S

(ج)



شکل 1- نمودارهای سه‌بعدی و کانتر اثر نسبت آنزیم به سوبسترا، دما و pH بر بازیافت نیتروژنی
الف- نسبت آنزیم به سوبسترا و دما ب- نسبت آنزیم به سوبسترا و pH ج- دما و pH

در شکل 1-الف مشخص است که افزایش دما و نسبت آنزیم به سوبسترا با افزایش بازیافت نیتروژنی همراه است تا به نقطه‌ی بهینه که حداکثر بازیافت را به‌همراه دارد برسد. پس از آن با افزایش دما و نسبت آنزیم به سوبسترا، بازیافت نیتروژنی روند کاهشی را نشان داد که احتمالا به این دلیل است که افزایش دما با سرعت بخشیدن به واکنش بین آنزیم و سوبسترا باعث افزایش بازیافت نیتروژنی می‌گردد تا به دمای بهینه برسد، اما افزایش بیشتر، به علت دناتوره شدن آنزیم، کاهش فعالیت بیولوژیک آنزیم را سبب شده و بر بازیافت اثر منفی می‌گذارد (Kristinsson & Rasco, 2000; Nilsang *et al.*, 2005; Wasswa *et al.*, 2007).

در شکل 1-ب که تغییرات بازیافت نیتروژنی در نسبت‌های مختلف آنزیم به سوبسترا و pH را نشان می‌دهد، مشخص شده است که در نسبت‌های آنزیم به سوبسترای پایین، تاثیر pH بر بازیافت نیتروژنی، کم می‌باشد ولی در نسبت‌های بالای آنزیم به سوبسترا، تاثیر pH بر بازیافت نیتروژنی افزایشی است، تا به نقطه بهینه خود برسد و پس از آن روند کاهشی به خود می‌گیرد. همچنین این شکل نشان می‌دهد که تاثیر نسبت آنزیم به سوبسترا بر بازیافت نیتروژنی در pHهای مختلف، ابتدا افزایشی است تا به حداکثر خود که بهینه بازیافت نیتروژنی است برسد، پس از آن، افزایش بیشتر نسبت آنزیم به سوبسترا با کاهش بازیافت نیتروژنی همراه است. با توجه به اینکه واکنش‌های کاتالیزشده آنزیمی همچون سایر واکنش‌های شیمیایی تنها در صورتی پیش می‌روند که با کاهش سطح انرژی آزاد اصلی همراه باشند، در نتیجه غلظت آنزیم به سوبسترا باید در سطح مشخصی باشد تا واکنش انجام گیرد و میزان فرآورده‌ی نهایی بهینه باشد (Barman, 1969). بنابراین با افزایش غلظت سوبسترا، آنزیم اشباع شده و فعالیت آنزیم به سمت حداکثر پیش می‌رود. اما در مطالعات کینتیک آنزیمی یک رابطه برهم‌کنشی بین میزان آنزیم و مقدار سوبسترا برقرار است و در یک نقطه یا محدوده بهینه، کارایی آنزیم حداکثر خواهد بود (Palmer, 1985). این مسئله می‌تواند توضیح دهد که چرا افزایش بیشتر میزان آنزیم مصرفی نمی‌تواند به تولید پروتئین با حداکثر بازیافت نیتروژنی منجر شود. مطالعه مشابه دیگر نظیر مطالعه‌ی Diniz و Martin (1996) بر روی عضله سگ-ماهی (*Squalus acanthias*) نیز نشان می‌دهد که افزایش میزان آنزیم با افزایش فعالیت آنزیم همراه است تا به نقطه‌ی بهینه برسد،

ولی افزایش فراتر از نقطه‌ی بهینه در میزان آنزیم، باعث کاهش در فعالیت آنزیم می‌شود.

شکل 1-ج بیانگر تغییرات بازیافت نیتروژنی در دماها و pHهای مورد آزمایش است که بیان می‌دارد افزایش دما باعث افزایش بازیافت نیتروژنی می‌شود تا به نقطه‌ی بهینه برسد و سپس بازیافت نیتروژنی روند کاهشی به خود می‌گیرد. همچنین بالارفتن pH نیز باعث افزایش بازیافت نیتروژنی می‌شود، ولی این افزایش در دماهای پایین کمتر می‌باشد. pH می‌تواند بر حالت یونیزاسیون آمینواسیدهای اسیدی و بازی اثر بگذارد. آمینواسیدهای اسیدی دارای گروه عاملی کربوکسیل و آمینواسیدهای بازی دارای گروه عاملی آمین در زنجیره جانبی خود می‌باشند. اگر حالت یونیزاسیون آمینواسیدهای پروتئین تغییر کند، پیوندهای یونی که شکل سه‌بعدی پروتئین را تعیین می‌کنند، تغییر می‌یابند. این می‌تواند منجر به تغییر در پروتئین و غیرفعال‌شدن آنزیم گردد. pH تنها باعث تغییر شکل آنزیم نمی‌شود، بلکه ممکن است باعث تغییر در شکل یا خواص سوبسترا گردد بطوریکه هم سوبسترا نمی‌تواند به قسمت فعال آنزیم پیوند یابد و هم نمی‌تواند تحت تجزیه قرار بگیرد. به همین جهت هر آنزیم دارای pH بهینه است که با آنزیم دیگر متفاوت می‌باشد (BCH4053L, 2015). آلکالاز یک آنزیم قلیایی است و بهینه فعالیت آن در pH: 8-8/5 می‌باشد (See *et al*., 2011).

شرایط بهینه توسط نرم‌افزا بدست آمد. هدف متغیرهای مستقل آزمایشات صورت‌گرفته، در محدوده و اعتبار آن‌ها، 3 تنظیم شد. هدف متغیر پاسخ یا همان بازیافت نیتروژنی نیز در حداکثر و اعتبار آن، 5 تنظیم گردید. بعد از تنظیم محدوده‌ها، نرم‌افزار، نقاط بهینه را به‌دست آورد که شرایط بهینه آبکافت از لحاظ بازیافت نیتروژنی برای پروتئین آبکافت‌شده با درجه مطلوبیت 1 بدین صورت بود: نسبت آنزیم به سوبسترا 1/92 درصد، دمای 52/69 درجه سانتی‌گراد و pH 8/50 که منجر به تولید پروتئین آبکافت‌شده با بازیافت نیتروژنی 36/89 درصد گردید.

به‌منظور تایید شرایط پیشنهادشده از نظر نسبت آنزیم به سوبسترا، دما و pH توسط معادله ریاضی، آزمایشی تحت شرایط پیش‌بینی شده مدل، اجرا گردید (در سه تکرار) که در این شرایط پروتئین آبکافت‌شده با بازیافت نیتروژنی 37/59 درصد به‌دست آمد. این مقدار تقریباً مطابق با مقدار پیش‌بینی شده توسط مدل بود که بیانگر شرایط بهینه جهت تولید پروتئین آبکافتی سر و بازوی ماهی مرکب ببری از نظر بازیافت نیتروژنی می‌باشد و برای بررسی‌های بعدی از این پروتئین استفاده شد.

ترکیب اسیدآمینه

نتایج مربوط به ترکیب اسیدهای آمینه کل پروتئین آبکافت‌شده ماهی مرکب در جدول 4 آمده است. بر اساس این جدول نسبت اسیدهای آمینه‌ی ضروری به کل اسیدهای آمینه 55 درصد و نسبت اسیدهای آمینه ضروری به انواع غیرضروری 1/25 بدست آمد.

جدول 4- ترکیب اسیدهای آمینه کل پروتئین آبکافت‌شده سر و بازوی ماهی مرکب

اسیدآمینه (گرم در 100 گرم پروتئین)	پودر پروتئینی	اسیدآمینه (گرم در 100 گرم پروتئین)	پودر پروتئینی	اسیدآمینه (گرم در 100 گرم پروتئین)	پودر پروتئینی
***هیستیدین**	8/14	تیروزین	2/97	گلایسین	5/64
***ایزولوسین**	4/65	*ترئونین	3	سرین	3/35
***لوسین**	7/19	*آرژنین	11/61	گلوتامیک‌اسید	13/66
***لیزین**	6/94	*والین	3/88	پرولین	4/57
***متیونین**	3/83	آلانین	3/47	هیدروکسی‌پرولین	1/65
***فنیل آلانین**	3/63	آسپارتیک‌اسید	6/51	سیستئین	0/35

* اسیدهای آمینه ضروری

آمارهای سازمان‌های جهانی FAO/WHO (1990) نشان می‌دهد که برای انسان بالغ، نسبت اسیدهای آمینه ضروری به کل اسیدهای آمینه نباید از 40 درصد و نسبت اسیدهای آمینه ضروری به غیرضروری نباید از 0/6 کمتر باشد. که نشان می‌دهد مقدار اسیدهای آمینه‌ی پروتئین آبکافتی سر و بازوی ماهی مرکب از مقدار استاندارد جهانی بیشتر و از کیفیت مناسبی برخوردار است. اویسی‌پور و همکاران (1389)، نسبت اسیدهای آمینه ضروری به کل اسیدهای آمینه را برای پروتئین آبکافت‌شده امعاء احشاء تون زرد باله (*Thunnus albacares*) با استفاده از آنزیم آلکالاز 55/4 درصد و برای اسیدهای آمینه ضروری به غیرضروری 1/47 به دست آوردند که مشابه با نتیجه‌ی این تحقیق بود.

از طرف دیگر نسبت اسیدهای آمینه طعم‌زا (آسپارتیک‌اسید، گلایسین، آلانین و گلوتامیک‌اسید) به کل اسیدهای آمینه در پروتئین آبکافتی حاصل از شرایط بهینه سر و بازوی ماهی مرکب برابر با

30/81 درصد بود. اویسی پور و همکاران (1389)، این نسبت را برای پروتئین آبکافت شده امعاء و احشاء ماهی تن زرد باله با استفاده از آنزیم‌های تجاری بین 35 تا 37 درصد و Coa و همکاران (2008) نیز در آزمایش خود بر روی آبکافت سر میگو این نسبت را بین 37/12 تا 39/18 درصد بدست آوردند که در هر دو مطالعه این مقادیر را بالا و مناسب گزارش نمودند. با توجه به این گزارشات می‌توان بیان نمود که نسبت اسیدهای آمینه طعم‌زا به کل اسیدهای آمینه در این مطالعه در میزان مناسب قرار داشتند.

از طرفی میزان اسیدآمینه آرژنین در پروتئین آبکافتی قابل توجه بود. اسیدآمینه آرژنین، یک اسیدآمینه مهم در ترکیب پروتئین می‌باشد و نقش مهمی در سنتز پروتئین‌ها، کاهش سمیت مواد، تبادلات انرژی (Cao *et al*., 2008) و کاهش بیماری‌های قلبی عروقی (Niittynen *et al*., 1999) ایفا می‌کند.

شاخص شیمیایی

شاخص شیمیایی پروتئین آبکافت‌شده حاصل از شرایط بهینه سر و بازوی ماهی مرکب در جدول 5 نشان داده شده است. در این جدول، میزان شاخص شیمیایی اسیدهای آمینه با اسیدهای آمینه مورد نیاز انسان (FAO/WHO, 1990)، اسیدهای آمینه مورد نیاز کپور (NRC, 1993) و اسیدهای آمینه ضروری موجود در شیر گاو (Salmen *et a*l., 2012) مقایسه شده است.

جدول 5- شاخص شیمیایی پروتئین آبکافت شده سر و بازوی ماهی مرکب ببری

آمینو اسید*	پروتئین مرجع [1]	پروتئین آبکافت‌شده	پروتئین مرجع [2]	پروتئین آبکافت‌شده	کازئین شیر گاو[3]	پروتئین آبکافت‌شده
هیستیدین	1/6	5/08	2/1	3/87	2/97	2/74
ایزولوسین	1/3	3/57	2/5	1/86	4/64	1/00
لوسین	1/9	3/78	3/3	2/17	8/24	0/87
لیزین	1/6	4/33	5/7	1/21	9/78	0/70
متیونین	1/7	2/25	3/1	1/23	2/66	1/43
فنیل‌آلانین	-	-	6/5	0/55	4/62	0/78
ترئونین	0/9	3/33	3/9	0/76	4/00	0/75
آرژنین	-	-	1/31	8/86	3/53	3/28
والین	1/3	2/98	3/6	1/07	6/17	0/62

* گرم در 100 گرم پروتئین

1- پروتئین مرجع بر اساس نیاز انسان به اسیدهای آمینه (FAO/WHO, 1990).

2- پروتئین مرجع بر اساس نیاز ماهی کپور به اسیدهای آمینه (NRC, 1993).

3- ترکیب اسیدهای آمینه ضروری کازئین شیر گاو (Salmen *et al*., 2012).

همانگونه که مشاهده می‌شود پروتئین آبکافت‌شده تحقیق حاضر می‌تواند نیاز یک انسان بالغ را به اسیدهای آمینه ضروری فراهم کند. نتایج مشابهی در مورد پروتئین آبکافت‌شده سایر ماهیان گزارش شده است (Ovissipour *et al*., 2009a; Ovissipour *et al*., 2009b; Bhaskar *et al*., 2008).

Ovissipour و همکاران (2009 a,b) گزارش نمودند که پروتئین آبکافت شده امعاء و احشاء تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و فیل ماهی (*Huso huso*)، نیازهای یک انسان بالغ را به اسیدهای آمینه تامین می‌کنند. اما در مقایسه ترکیب اسیدهای آمینه این پروتئین با نیازهای پروتئینی ماهی کپور می‌توان گفت که اسیدهای آمینه فنیل‌آلانین و ترئونین، اسیدهای آمینه محدودکننده محسوب می‌شوند. Ovissipour و همکاران (2009 a,b)، اعلام نمودند که مهمترین اسیدآمینه‌ی محدودکننده، در پروتئین آبکافت‌شده امعاء و احشاء تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و فیل‌ماهی (*Huso huso*)، اسیدآمینه فنیل‌آلانین می‌باشد. همچنین مقایسه شاخص شیمیایی پودر پروتئین آبکافت‌شده ماهی مرکب با اسیدهای آمینه‌ی ضروری در کازئین شیر گاو نشان داد که اسیدهای آمینه‌ی لوسین، لیزین، فنیل‌آلانین، ترئونین و والین کمتر از مقدار موجود در کازئین شیر گاو بوده و محدودکننده می‌باشند.

Motamedzadegan و همکاران (2011)، در بررسی شاخص شیمیایی پروتئین آبکافت شده‌ی امعا و احشاء ماهی تون زرد باله، دریافتند که این پروتئین نیازهای تغذیه‌ای یک فرد بالغ را به غیر از متیونین تامین می‌کنند و برای نیازهای ماهی کپور، لیزین، متیونین و فنیل آلانین به ترتیب اسیدهای آمینه محدود کننده بودند.

نرخ کارایی پروتئین

نتایج مربوط به نرخ کارایی پروتئین در جدول 6 نشان داده شده است. این نتایج نشان داد که پروتئین آبکافت‌شده ماهی مرکب نرخ کارایی پروتئین بالایی دارد که نرخ کارایی پروتئین برای این پروتئین آبکافتی بین 2/37-4/37 به‌دست آمد. این میزان برای ماهی کاد (*Gadus murhus*) و کاپلین (*Mallotus villosus*) به‌ترتیب 3/24-2/86 و 3/11-2/61 گزارش شده است (Shahidi *et al*., 1991; Shahidi *et al*., 1995). بر اساس ترکیب اسیدآمینه‌ی کازئین شیر گاو که توسط Salmen و همکاران (2012) گزارش شده است، نرخ کارایی پروتئین کازئین شیر گاو 3/13-1/7 است که در مقایسه بین نرخ کارایی پروتئین آبکافت‌شده سر و بازوی ماهی مرکب با نرخ کارایی پروتئین کازئین شیر می‌توان نتیجه گرفت که پروتئین آبکافتی سر و بازوی ماهی مرکب نرخ کارایی بالایی دارد.

جدول 6- نرخ کارایی پروتئین آبکافت‌شده سر و بازوی ماهی مرکب ببری و کازئین شیر

	معادله	پروتئین آبکافت‌شده	کازئین[1]
1	(پرولین) 0/047 – (لوسین) 0/456 + 0/684 -	2/37	-
2	(تیروزین) 0/104 – (لوسین) 0/454 + 0/468 -	2/48	2/75
3	(تیروزین) 0/944 – (هیستیدین) 0/211 + (لوسین) 0/780 + (متیونین) 0/435+ 1/816 -	4/37	1/70
4	0/08084 (A) 0/1094	2/56	3/13
5	0/06320 (B) – 0/1539	3/37	3/10

A: مجموعه اسیدهای آمینه لوسین، ایزولوسین، فنیل‌آلانین، لیزین، ترئونین، والین، متیونین

B: مجموع اسیدهای آمینه A و هیستیدین، آرژنین و تیروزین

(Salmen *et al*., 2012)

منابع

Ahmad, M., Benjakul, S., Oissipour, M., & Prodpran, T., 2011, Indigenous proteases in the skin of unicorn leatherjacket (*Alutherus monoceros*) and their influence on characteristic and functional properties of gelatin. *Food chemistry*, 127, 508-515.

Alsmeyer, R. H., Cunningham, A.E., & Happich, M., 1974, Equations predict PER from amino acid analysis. *Food Technology*, 28(7), 34-40.

AOAC, 2005, Association of Official Analytical Chemists International. Washington DC, 18th Ed, 238.

Barman, T. E., 1969, Enzyme handbook, Berlin Heidelberg. New York: Springer, Vol 2. 508

BCH4053L, 2015, Kinetics: Determination of an Enzymes Activity - Relevance [Online]. http://www.chem.fsu.edu/chemlab/bch4053l/enzymes/activity/index.html].

Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C., & Lalitha, R. G., 2008, Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (Catla catla) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource Technology*, 99 (2), 335–343.

Cao, W., Zhang, C., Hong, P., & JI, H., 2008, Response surface methodology for autolysis parameters optimization of shrimp head and amino acids released during autolysis. *Food chemistry*, 109, 176-183.

Diniz, F. M., & Martin, A. M., 1996, Use of response surface methodology to describe the combined effects of pH, temperature and E/S ratio on the hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) muscle. *International journal of food science & technology*, 31, 419-426.

Diniz, F.M., & Martin, A.M., 1997, Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) protein. Composition of the hydrolysates. *Internaliorrd Jourticd of Fond Sciences und Nutrition*, 48, 191-200.

FAO, 2013, Food and Agricultural Organization Yearbook, Fishery Statistics, Catches and Landings, [Online], [http://www.fao.org/fishery/statistics/global-capture-production/query/en].

FAO/WHO, 1990, Energy and protein requirements, Report of joint FAO/ WHO/UNU Expert Consultation Technical Report., FAO/WHO and United Nations University, Geneva, 724, 116–29.

Guerard, F., Guimas, L., & Binet, A., 2002, Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. Journal of Molecular Catalysis B: *Enzymatic*, 19, 489-498.

Haltrich, D., Laussamayer, B., Steiner, W., Nidetzky, B., & Kulbe, K. D., 1994, Cellulolytic and hemicellulolytic enzymes of Sclerotum rolfsii: Optimization of the culture medium and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic material. *Bioresource Technol*, 50, 43-50.

Heinrikson, R. L., & Meredith, S. C., 1984, Amino acid analysis by reverse-phase high-performance liquid chromatography: precolumn derivatization with phenylisothiocyanate. *Analytical biochemistry*, 136, 65-74.

Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A., 2000, Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties.

Critical reviews in food science and nutrition, 40, 43-81.

Layne, E., 1957, Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. Methods in enzymology, 3, 447-454.

Lee, Y.B., Elliot, J.G., Rickansrud, D.A., & Mugberg, E.C., 1978, Predicting protein efficiency ratio by the chemical determinations of connective tissue content in meat. *Journal of Food Science*, 43, 1359–1362.

Liaset, B., Lied, E., & Espe, M., 2000, Enzymatic hydrolysate of by-product from the fish-filleting industry; chemical characterization and nutritional evaluation. *Journal of the Science of food and Agriculture*, 80, 581-589.

Martin, A.M., & Porter, D., 1995, Studies on the hydrolysis of fish protein by enzymatic treatment. In Food Flavours: Generation, Analysis and Process Influence. (Eds.), G. Charalambous. Amsterdam: Elsevier Science, 1395-1404.

Motamedzadegan, A., Davarniam, B., Asadi, G., Abedian Kenari, A., & Ovissipour, M. R, 2011, Optimization of enzymatic hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) viscera using Neutrase. *International Aquatic Research*, 2, 173-181.

Niittynen, L., Nurminen, M.-L., Korpela, R., & Vapaatalo, H., 1999, Role of arginine, taurine 4 and homocysteine in cardiovascular diseases. *Annals of medicine*, 31, 318-326.

Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M., & Assavanig, A., 2005, Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of food Engineering*, 70, 571-578.

NRC, 1993, National Research Council. National Academy of Sciences, Nutrient Requirements of Fish. Washington, USA, 124.

Ovissipour, M. R, Abedian Kenari, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., & Shahiri, H., 2009a, the effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry*, 115, 238-242.

Ovissipour, M. R, Safari, R., Motamedzadegan, A., & Shabanpour, B., 2012, Chemical and biochemical hydrolysis of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) visceral protein. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 460-465.

Ovissipour, M. R, Taghiof, M., Motamedzadegan, A., Rasco, B., & Molla, A. E., 2009b, Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of beluga sturgeon (*Huso huso*) using Alcalase. *International Aquatic Research*, 1, 31-38.

Ovissipour, M.R., Abedian Kenari, A., Motamedzadegan, A., & Nazari, R.M., 2010. The Study on The Properties of The Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Visceral Protein Hydrolysates Using Commercial Enzymes. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 6 (1), 68-76.

Palmer, T., 1985, Understanding Enzymes. Ellis Horwood, Chicheste. 2rid Ed. 164-165.

Quaglia, G., & Orban, E., 1987, Enzymic solubilisation of proteins of sardine (Sardina pilchardus) by commercial proteases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 38, 263-269.

Salmen, S. H., Abu-Tarboush, H. M., Al-Saleh, A. A., & Metwalli, A. A., 2012, Amino acids content and electrophoretic profile of camel milk casein from different camel breeds in Saudi Arabia. *Saudi journal of biological sciences, 19, 177-183.*

See, S. F., Hoo, L. L., & Babji, A. S., 2011, Optimization of enzymatic hydrolysis of Salmon (*Salmo salar*) skin by Alcalase. *International Food Research Journal*, 18(4), 1359-1365.

Shahidi, F., Han, X. Q., & Synowiecki, J., 1995, Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food chemistry*, 53, 285-293.

Shahidi, F., Naczk, M., Pegg, R. B., & Synowiecki, J., 1991, Chemical composition and nutritional value of processing discards of cod (*Gadus murhus*). *Food Chemistry*, 42, 145-151.

Surowka, K., & Fik, M., 1992, Studies on the recovery of proteinaceous substances from chicken heads. I. An application of neutrase to the production of protein hydrolysate. *International journal of food science & technology*, 27, 9-20.

Valinasab, T., Keivan, A., Emadi, H., & Oryan, S., 2001. Morphometric study of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) in Persian Gulf and Oman Sea. *Iranian Journal of fisheries Science*. 9 (4), 79-92.

Wasswa, J., Tang, J. G. U, X-H., & Yuan, X-Q., 2007, Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*, 104, 1698-1704.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 491-502

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 502-491

Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of head and arms of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) protein using Alcalase

K. Ali asgari[1], S. Yeganeh*[2], S. A. Jafar pour[2], R. Safari[3]

Received: 2015.11.02
Accepted: 2016.04.30

Introduction: Nowadays, use of new processing method is important for converting by-products into more marketable and acceptable forms to achieve a better utilization. Sea food processing generate protein rich by-products that their quantity depends on processing method. One of the methods for effective protein recovery from this protein rich by-product is preparation of protein hydrolysate through enzymatic, autolytic and chemical hydrolysis. Enzymatic hydrolysis is widely employed to improve the functional and nutritional properties of the fish byproducts. Hydrolysis may be conducted as a method of separating soluble nitrogenous compounds from insoluble particles and fish oil, and offers good predictability of the products. So nitrogen recovery assay can determine enzyme efficiency in separation of soluble protein from insoluble protein. Different factors (Enzyme level, temperature, pH, enzyme to substrate ratio) can effect on the hydrolysis degree, nitrogen recovery and functional properties of protein hydrolysate, so optimization method is used for obtaining the best condition. RSM is a statistical model frequently used for the optimization of complex systems and uses quantitative data from an appropriate experimental design to determine and simultaneously solve multivariate problems. Based on the experimental data, RSM could tell us the optimum conditions to obtain the desired responses, as well as the mathematical model in explaining the relationship between the experimental variables and its responses. Alcalase has great ability to solubilize fish protein and is nonspecific, with an optimum temperature that ranged from 50 to 70°C. It has optimal pH range at the value of 8 to 10 that could reduce the risk of microbial contaminations. Moreover, it has been reported that produced protein hydrolysate by Alcalase had less bitter principles compared to those prepared with papain. Furthermore Alcalase has been documented to be a better candidate for hydrolyzing fish proteins based on enzyme cost per activity.

The Cuttlefish (*Sepia officinalis*) can be found in the south water of Iran including Persian Gulf and Oman Sea and their catch has been recorded about 5102 t according to FAO Statistic. This species has been considered for exporting to other country. During Cuttlefish processing, 30-35 % byproducts including head, arms and viscera are generated that can be invaluable products and environmental pollution while it is protein rich source. The objective of this study was to optimize nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of head and arms of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) using Alcalase.

Materials and methods: Response surface methodology (RSM) based on Box-Behnken was employed to investigate the effects of different operating conditions including temperature (45, 50 and 55˚C), pH (7.5, 8 and 8.5) and alcalase enzyme to substrate ratio (1, 1.5 and 2) on the nitrogen recovery as a surface response. Referring to the R^2 of 0.96 for nitrogen recovery, the mathematical model showed acceptable fitness with the experimental data, which indicated that major part of the variability within the range of values studied could be explained by the model.After obtaining optimum condition for nitrogen recovery, freeze dried protein powder was produced by optimized condition and analyzed for amino acid composition, chemical score of cuttlefish protein hydrolysate and protein efficiency ratio.

Results & Discussion: The obtained results showed the interactive effect of temperature and enzyme to substrate ratio was not significant ($P> 0.05$) but the interaction effect of enzyme to substrate ratio and pH and the interaction effect of temperature and pH was significant ($P<0.05$). Nitrogen recovery was improved by increasing temperature, pH and enzyme to substrate ratio to optimum level because of temperature caused to increase the reaction between enzyme and substrate but excessive temperature result to enzyme denaturation. pH can influence on hydrolysis due to changing amino acid charges of enzyme and substrate characteristic. Higher

1 And 2. M.Sc. Graduated and Associate Professor, Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari
3. Iranian Fisheries Research Organization, Caspian Sea Ecology Research Center, Sari.
(Corresponding author's Email: skyeganeh@gmail.com)

enzyme concentrations caused more active sites available for the substrate to be hydrolyzed. The optimum values for temperature, pH and enzyme to substrate ratio were determined to be 52.69 ˚C, 8.5 and 1.92% respectively, which resulted in nearly 36.89% nitrogen recovery. Based on the lack of fitness factor which was not significant, it is concluded that the resulted model is capable of prediction at different levels of variables. Amino acid composition from optimized conditions of protein hydrolysis showed that this protein has a high nutritional value. Essential amino acids such as phenylalanine, valine, threonine, arginine, methionine, leucine, isoleucine, lysine, and histidine to total amino acid ratio and essential amino acid to non-essential amino acid (alanine, aspartic acid, glycin, serine, glutamic acid, proline, hdroxyproline and cysteine) ratio obtained 55 % and 1.25 %, respectively. Arginine is an important amino acid that observed 11.61 (g per 100 g protein) in Cuttle fish head and arms protein hydrolysate. Chemical score of head and arms of cuttlefish protein hydrolysate showed that this protein has a high amount of essential amino acids and could provide the essential amino acids (Standard protein FAO/WHO) for adult human requirements, but phenyl alanine and threonin are limiting compared to requirements of common carp (Standard protein NRC). Protein efficiency ratio of this hydrolysate was 2.37-4.37 that showed high protein efficiency compared to casein of milk.

Keywords: Hydrolysis; Alcalase; Nitrogen recovery; Optimization; Cuttlefish

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 503-516

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 516-503

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های پوست و پالپ انجیر در پایداری اکسایشی روغن کانولا به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان سنتزی

الهه مقصودلو[1]- رضا اسماعیل‌زاده کناری[2*]- زینب رفتنی امیری[2]

تاریخ دریافت: 1394/08/16
تاریخ پذیرش: 1395/02/04

چکیده

نگرانی از ایمنی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به تحقیقات گسترده‌ای درباره گیاهان که منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند منجر شد. میوه انجیر حاوی مقادیر زیادی ترکیبات فنولی، فلاوونوئیدی و آنتوسیانین‌ها است که مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند. در پژوهش حاضر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های پوست و پالپ دو واریته انجیر (سبز و سیاه) مورد بررسی قرار گرفت. عصاره‌گیری با روش استخراج اولتراسوند با کمک حلال (اتانول– آب 70 درصد) انجام شد. سنجش میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌های استخراج شده به ترتیب به روش رنگ‌سنجی فولین-سیوکالتیو و آلومینیوم کلرید صورت گرفت. به‌طور کلی واریته‌ی سیاه میزان بالاتری از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را نسبت به واریته سبز نشان داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون مهار رادیکال‌های DPPH، قدرت احیاکنندگی اتم آهن ارزیابی و با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ مقایسه شد. سپس کارایی عصاره پوست انجیر سیاه در غلظت 1میلی‌گرم در میلی‌لیتر در پایداری اکسایشی روغن کانولا با اندازه‌گیری عدد پراکسید، عدد تیوباربیتوریک اسید، شاخص پایداری اکسایشی، عدد اسیدی، دی‌ان مزدوج و شاخص رنگی طی شرایط حرارتی (دمای 180 °C، 24 ساعت) با TBHQ مقایسه گردید. نتایج نشان داد عصاره پوست انجیر سیاه در کنترل اکسایش روغن کانولا بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی را داشته و قابل رقابت با TBHQ بود. بنابراین عصاره‌ی پوست انجیر واریته سیاه می‌تواند به‌عنوان منبع خوبی از ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان‌ها در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: انجیر، پوست، پالپ، اولتراسوند، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پایداری اکسایشی

مقدمه

اکسایش روغن‌ها و چربی‌ها در شرایط حرارتی و ذخیره‌سازی طولانی مدت، علاوه بر کاهش ارزش تغذیه‌ای و کیفیت حسی، عمر ماندگاری فرآورده را نیز کاهش داده و به دلیل تولید ترکیبات نامطلوب در روغن بر سلامت مصرف‌کنندگان آثار سوئی می‌گذارد، از این‌رو جلوگیری یا تأخیر در فرآیند اکسایش تحت شرایط حرارتی و انبارداری ضروری است (Bera *et al*., 2006). روش‌های مختلفی برای کنترل فرآیند اکسایش روغن‌ها استفاده می‌شود که یکی از مهم‌ترین آن‌ها استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است (Pokorny *et al*., 2006). آنتی‌اکسیدان‌ها به ترکیباتی گفته می شود که از طریق خاتمه دادن به واکنش‌های زنجیره‌ای مرحله‌ی آغاز و یا انتشار در فرآیند اکسایش قادر به تأخیر، کند کردن و حتی توقف فرآیند اکسایش می‌باشند (Aydeniz and Yilmaz,2012). امروزه در صنعت به‌طور گسترده‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نظیر بوتیلات هیدروکسی آنیزول (BHA)، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT)، ترشیاری بوتیل هیدروکینون (TBHQ) برای افزایش پایداری روغن‌ها استفاده می‌شود (Anagnostopoulou *et al*., 2006). اگرچه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ارزان‌تر بوده و درجه خلوص بالاتری نسبت به انواع طبیعی دارند، اما تحقیقات اثبات کرده‌اند این آنتی‌اکسیدان‌ها دارای اثرات سمی و سرطان‌زایی بر روی انسان‌ها و حیوانات هستند. از این‌رو در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی درجهت جایگزین کردن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که درعین دارا بودن خصوصیات لازم، فاقد آثار زیانبار بر سلامت انسان می‌باشد، صورت گرفته است (Du-Toit *et al*., 2001؛ Silva *et al*., 2004). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی نظیر فنولیک‌ها، اسیدهای آلی، ویتامین E و کاروتنوئیدها، رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کنند، بنابراین از واکنش‌های اکسیداتیو و در نتیجه‌ی آن از بیماری‌های مخرب جلوگیری می‌کند (Lee *et al*., 2005). یکی

1 و 2- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی،دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی ساری، مازندران

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

DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.51210

از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنولی موجود در نمونه‌های گیاهی است (Pratt and Hudson, 1990) که ممکن است در هر قسمتی از گیاه یافت شود. جهت استفاده از این ترکیبات ابتدا باید آن‌ها را استخراج کرد. روش‌های سنتی استخراج با حلال نیاز به زمان، مصرف حلال و نیروی کار بیشتری دارند. بنابراین نیاز به توسعه و استفاده از روش‌های جدید، برای کاهش زمان استخراج، مصرف حلال، آلودگی و افزایش میزان استخراج ترکیبات هدف می‌باشد (Wang and Weller, 2006). در میان این روش‌ها استخراج به کمک اولتراسوند، یکی از ارزان‌ترین، ساده‌ترین و مؤثرترین روش‌هاست که قادر است در اثر پدیده‌ی کاویتاسیون بازده استخراج ترکیبات را افزایش داده و زمان استخراج را کاهش می‌دهد (Chen *et al*.,2010).

انجیر (*Ficus carica* L.) به بخش اوسیس (*Eusyce*) از تیره توت‌سانان (*Moraceae*) تعلق دارد. در این تیره بیش از 1400 گونه تقریبا در 40 جنس طبقه‌بندی شده اند (Lazreg *et al*.,2011). جنس *Ficus carica L.* شامل 700 گونه است که اغلب در مناطق گرمسیری می‌رویند. درخت انجیر بومی ایران، آسیای صغیر و سوریه است و درحال حاضر به‌صورت وحشی یا خودرو در بیشتر کشورهای حوزه‌ی دریای مدیترانه می‌روید. این درخت در سراسر جهان با نام انجیر، انجیر معمولی (Common fig) و یا انجیر خوراکی (Edible fig) شناخته می‌شود. انجیر در سراسر جهان میوه مهمی برای مصارف خشک و تازه‌خوری است و اخیرا ارزش دارویی آن مورد بررسی می‌باشد. انجیرخشک از نظر پلی فنول‌ها یکی از بالاترین رتبه‌ها را در میان میوه‌ها و نوشیدنی‌های معمولی دارد (Flaishman *et al*.,2008).

بعضی مطالعات، حضور ترکیبات فنولیک در این میوه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن را گزارش کرده‌اند. از جمله Vallejo و همکاران (2012)، هجده واریته انجیر عموما از جنوب شرقی اسپانیا و در دو برداشت (زمستان و تابستان) جمع‌آوری و نوع ترکیبات پلی‌فنلی آن را تعیین کردند.

Caliskan و همکاران (2011) خواص آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی انجیرهای انتخاب‌شده از مناطق مدیترانه‌ای شرق ترکیه (انجیر سیاه، بنفش، قهوه‌ای، زرد و سبز) را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، فنول کل، آنتوسیانین کل، فروکتوز، گلوکز، ساکاروز و رنگ میوه‌ها ارزیابی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های انجیر به‌وسیله روش FRAP اندازه‌گیری شد. بررسی اخیر همبستگی معنی‌داری را بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای پلی‌فنولی و آنتوسیانین میوه‌ها نشان داد. انجیر سیاه بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آنتوسیانین کل و فنول کل را بین سایرین داشت که مقادیر آن‌ها به‌ترتیب 2، 15، 2/5 برابر بیشتر از انواع انجیر سبز و زرد بود.

Piga و همکاران (2007) وجود ترکیبات فنولی در پوست و پالپ میوه انجیر را تایید کردند. آن‌ها نشان دادند ارقام میوه تیره از بیشترین میزان این ترکیبات برخوردار هستند. همچنین گزارش کردند که پلی‌فنول‌ها در پوست میوه تجمع یافته‌اند. Solomon و همکاران (2006) ترکیبات بالقوه موثر در سلامتی انسان را در شش واریته تجاری انجیر با رنگ‌های متفاوت (سیاه، قرمز، زرد و سبز) مطالعه کردند و میزان کل پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار و تنوع آنتوسیانین‌ها را مشخص نمودند. اما هیچ گزارشی مبنی بر ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی پوست انجیر به روش اولتراسوند و همچنین کاربرد آن در روغن خوراکی در منابع یافت نشد. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پوست و پالپ انجیر با روش استخراج با کمک اولتراسوند و سپس استفاده از بهترین عصاره مورد بررسی در روغن کانولا و ارزیابی ویژگی‌های روغن حاوی آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

روغن کانولا فاقد آنتی‌اکسیدان سنتزی از کارخانه عالیا گلستان تهیه و تا زمان انجام آزمون در دما 4 °C نگهداری گردید. انجیرها در دو نوع تیره و روشن در اوایل شهریور 1392 از بازار محلی گرگان تهیه و واریته آن تعیین شد. انجیرها در دو واریته سبز (Sabz) و سیاه (Siyah) بلافاصله پس از تمیز کردن به سرعت پوست‌گیری شدند، پالپ‌ها را برش داده و به‌صورت ورق مسطح درآورده، سپس پالپ‌ها و پوست‌های هر یک از ارقام به‌طور جداگانه، تحت شرایط طبیعی محیط در سایه خشک گردیدند و جهت خشک کردن تکمیلی در دمای 60°C به مدت 24 ساعت قرار گرفتند. نمونه‌های خشک‌شده تا مش 40 آسیاب شده و به منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت در بسته‌های دو لایه پلی‌اتیلنی، در دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند (Li *et al*.,2012).

استخراج عصاره به کمک اولتراسوند

10 گرم از هر یک از نمونه‌های پوست و پالپ دو واریته انجیر سبز و سیاه به نسبت 1 به 10 با حلال اتانول-آب (به نسبت 7 به 3) مخلوط گردید و به مدت 20 دقیقه در دمای 40 درجه سانتی‌گراد تحت امواج اولتراسوند با فرکانس 37 کیلوهرتز در حمام اولتراسونیک (Elma، اس 30 اچ) با توان مصرفی 280 W و توان حرارتی 200 وات قرار داده شد. سپس محلول رویی توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شماره 1 صاف شد. در ادامه عصاره حاوی حلال در سطح پلیت‌های شیشه‌ای پخش و به آون با دمای 40 °C منتقل شد. پس از تبخیر حلال، عصاره‌ها تا رسیدن به وزن ثابت در دسیکاتور قرار گرفت. عصاره‌های حاصل تا زمان انجام آزمایش در دمای 18-

درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. (Esmaeilzadeh Kenari *et al*.,2014).

تعیین محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل

میزان ترکیبات فنولی کل نمونه‌های انجیر و روغن کانولای فاقد آنتی‌اکسیدان سنتزی به روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. معرف فولین- سیوکالتیو (زرد رنگ)، تحت شرایط قلیایی با ترکیبات فنولی موجود در عصاره واکنش می‌دهد و درنتیجه، از طریق جدا شدن یک اتم هیدروژن فنولی، آنیون فنولات تشکیل می‌شود. این واکنش‌های برگشت‌پذیر کاهش یک یا دو الکترون، سبب تشکیل کروموفورهای آبی رنگ بین آنیون فنولات و معرف فولین- سیوکالتیو می‌شود (Hassas-Roudsari *et al*.,2009). جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد و نتایج برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان شد (Capannesi *et al*., 2000؛ Javanmardi *et al*., 2003). سنجش میزان فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید با روش Ebrahimzadeh و همکاران (2010) انجام شد. از کوئرستین به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد و نتایج براساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بیان گردید (Ebrahimzadeh *et al*.,2010).

بررسی فعالیت ضدرادیکالی و قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها

جهت ارزیابی فعالیت ضدرادیکالی عصاره‌ها با آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH (Ebrahimzadeh *et al*.,2010) و نیز قدرت احیاکنندگی کل بر اساس روش Oyaizu (1986) غلظت‌های مختلف (0/5-3 میلی‌گرم در میلی‌لیتر) از عصاره‌ها آماده شد و نتایج به‌ترتیب به‌صورت درصد مهار رادیکال DPPH و جذب خوانده شده در 700 نانومتر بیان گردید.

بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در پایداری اکسایشی روغن کانولا طی شرایط حرارتی

برای انجام این آزمون عصاره پوست انجیر سیاه در غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به‌عنوان بهترین عصاره براساس میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها طبق آزمون مهار رادیکالی و قدرت احیاکنندگی آهن انتخاب و به روغن کانولای فاقد آنتی‌اکسیدان سنتزی افزوده شد. جهت آماده‌سازی 2 لیتر روغن با غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره، ابتدا 2 گرم عصاره در حلال اتانول- آب (70 درصد) حل و به بخشی از روغن فاقد آنتی‌اکسیدان سنتزی (حدود 100 میلی‌لیتر) افزوده شد. جهت انحلال بهتر از همزن مغناطیسی استفاده گردید (هم‌زمان حرارت جزیی سبب تبخیر حلال شد). پس از انحلال کامل عصاره و تبخیر حلال، روغن به حجم 2 لیتر رسانیده شد. روغن فرموله شده به مدت 24 ساعت در دمای 180 در سرخ‌کن حرارت داده و طی فواصل زمانی 4 ساعت نمونه‌برداری شد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایشات در دمای 18- نگهداری گردیدند. سپس عدد پراکسید و OSI (Oil/ Oxidative Stability Index) (AOCS, 2007)، عدد تیوباربیتوریک اسید(Sidwell *et al*., 1954) ، عدد اسیدی (AOCS, 1993)، دی‌ان مزدوج و رنگ (Saguy *et al*., 1996) نمونه‌های روغن اندازه‌گیری و با نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در غلظت 0/1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مقایسه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

محاسبات آماری کلیه داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی و حداقل در سه تکرار انجام شد. جهت تعیین معنی‌دار بودن داده‌ها، از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد و مقایسات میانگین در سطح احتمال 5 درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت و در نهایت برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

تعیین محتوای فنولی و فلاونوئیدی کل

جدول 1 میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در واریته سبز و سیاه انجیر را نشان می‌دهد. در مقایسه کلی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی پوست و پالپ دو واریته انجیر سبز و سیاه، نتایج آنالیز واریانس اثر نوع واریته و قسمت‌های مختلف میوه را معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$). عصاره‌های پوست واریته سیاه به‌طور معنی‌داری بالاترین ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را نشان داد. علت این امر را می‌توان با توجه به مطالعات سایر محققان به میزان بالای ترکیبات آنتوسیانین در واریته سیاه و عدم حضور این ترکیبات در پوست واریته سبز نسبت داد. Solomon و همکاران (2006) با بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی شش واریته انجیر در طیف رنگی متفاوت نشان دادند که در میوه‌های با پوست روشن (سبز یا زرد) میزان آنتوسیانین‌ها کمتر است. این محققان میزان آنتوسیانین‌ها را در واریته کادوتا (Kadota) که دارای پوست سبز است غیرقابل تشخیص اعلام کردند. همچنین نتایج همه‌ی مطالعات انجام شده بر روی انواع توت‌ها و انجیرها این مطلب را تأیید می‌کنند (Celik *et al*., 2008؛ Liu *et al*., 2002؛ Caliskan *et al*., 2011). تفاوت در رنگ میوه‌های انجیر ممکن است در اثر بیان جزئی ژن کنترل کننده مسیر آنتوسیانین با بالاترین بیان در واریته‌های بنفش تیره باشد (Solomon *et al*.,2006). همچنین مشخص شد پالپ و پوست واریته سیاه نسبت به واریته سبز حاوی میزان بالاتری از ترکیبات فلاونوئیدی است. مقادیر فنول و فلاونوئید نمونه‌های مورد بررسی، بعد از تبدیل واحدها بیشتر از میزان

ترکیبات فنولی واریته‌های مختلف انجیر در مطالعه Caliskan و همکاران (2011) با میانگین 54/3 میلی‌گرم در 100 گرم میوه تازه در واریته‌های روشن و میانگین 118/9 میلی‌گرم در 100 گرم میوه تازه در واریته‌های تیره بود. همچنین میزان ترکیبات فنولی انجیرها در مطالعه‌ی Solomon و همکاران (2006) از 41/7 میلی‌گرم در 100 گرم میوه تازه در نمونه پوست واریته روشن کادوتا (Kadota) تا 463 میلی‌گرم در 100 گرم میوه تازه در پوست واریته تیره میشن (Mission) به مراتب از مقادیر فنول واریته‌های انجیر سبز و سیاه مورد بررسی در تحقیق حاضر پایین تر بود. در هر دو واریته میزان فنول و فلاونوئید در پوست میوه نسبت به پالپ بیشتر بود. با توجه به این‌که، این ترکیبات به‌ویژه فلاونوئیدها نقش حفاظت از برخی ساختارهای سلولی نظیر کلروپلاست را در مقابل اثرات مضر تابش فرابنفش دارند، بنابراین در بخش‌هایی از گیاه که در سطح قرار گرفتند ازجمله برگ و پوست میوه تجمع بیشتری می‌یابند (Treutter *et al.*,2006؛ Macheix *et al.*,1990). قابل‌توجه است که تفاوت میزان فنول و فلاونوئید پوست و پالپ، در واریته سیاه نسبت به سبز بیشتر بود. علت این امر را می‌توان به‌حضور بیشتر آنتوسیانین‌ها در پوست سیاه نسبت داد.

جدول 1- ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل عصاره‌های پوست و پالپ انجیر سبز و سیاه

نمونه	فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره)
عصاره پالپ واریته سیاه	^{b}56/67 ± 0/82	^{c}2/30 ± 0/09
عصاره پالپ واریته سبز	^{b}54/36 ± 1/71	^{d}2/09 ± 0/15
عصاره پوست واریته سیاه	^{a}70/6 ± 3/51	^{a}4/59 ±0/00
عصاره پوست واریته سبز	^{b}54/84±0/55	^{b}2/92 ± 0/09

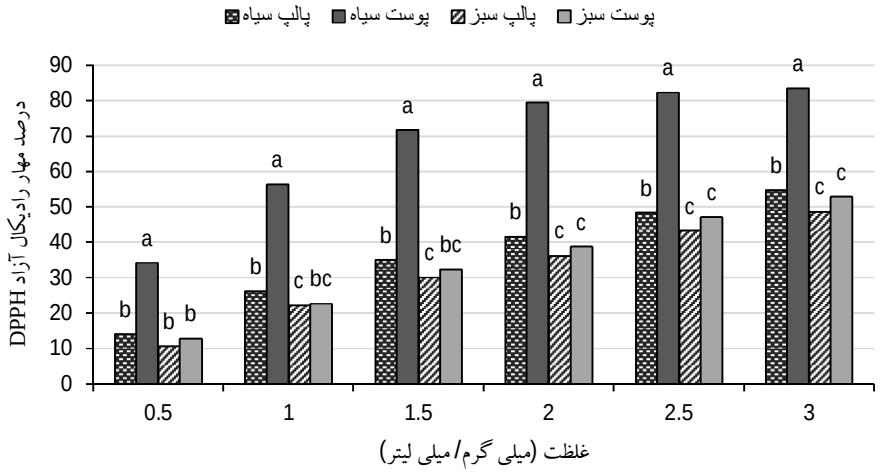
حروف مشابه در هر ردیف بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح 5 درصد است.

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های پوست و پالپ دو واریته انجیر

عصاره‌های استخراجی برای تعیین بهترین نوع و غلظت عصاره از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفتند. به دلیل تنوعی که در ترکیبات گیاهان مختلف وجود دارد، معمولاً از چند روش برای بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی بهره می برند، تا معایب روش‌های مختلف پوشانده شود.

میزان توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH

نتایج آنالیز واریانس اثر نوع و غلظت عصاره‌های پالپ انجیر را بر میزان درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در سطح 5 درصد معنی‌دار نشان داد (شکل1).



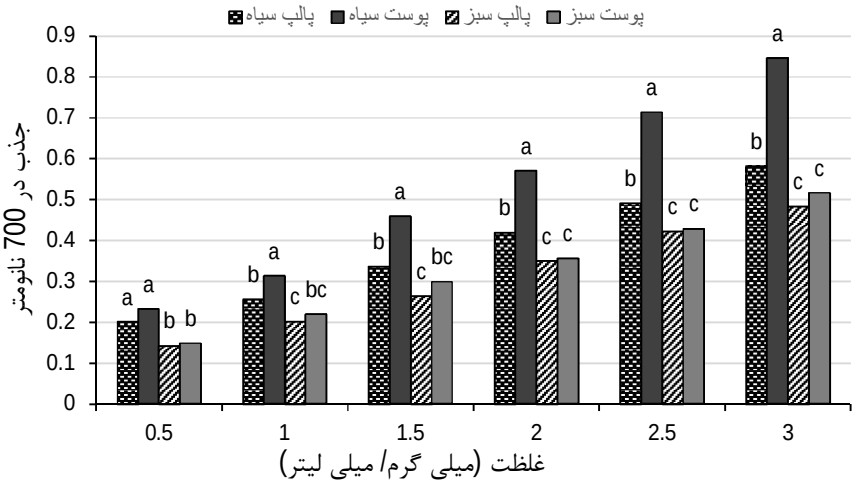
شکل 1- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت‌های مختلف عصاره‌های پوست و پالپ انجیر سیاه و سبز

TBHQ با غلظت 0/1 میلی‌گرم در میلی‌لیتر (با درصد مهارکنندگی 3/52±70/5) فعالیت مهارکنندگی رادیکال بهتری نسبت به عصاره‌های پالپ انجیر در تمام غلظت‌ها داشت. عصاره‌های واریته سیاه انجیر هم در بخش پوست و هم در بخش پالپ خاصیت

مهارکنندگی بالاتری نسبت به عصاره‌های واریته سبز نشان دادند. بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی را می‌توان به محتوای فنولی عصاره‌ها نسبت داد. زیرا عصاره‌های واریته سیاه، دارای ترکیبات فنولی بالاتری نسبت به واریته سبز بودند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در بیشتر موارد وابسته به غلظت بود. به‌طوری‌که با افزایش غلظت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، به‌دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش یافت (Sanchez-Moreno *et al*.,1999).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون قدرت احیاکنندگی اتم آهنIII

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تأثیر غلظت بر قدرت احیاکنندگی آهنIII عصاره‌ها و در نتیجه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها معنی‌دار است. افزایش در جذب مخلوط واکنش بیانگر قدرت احیاکنندگی بالای نمونه‌ها است. در این روش با افزایش غلظت عصاره‌ها قدرت احیاکنندگی آهن III عصاره‌ها و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها افزایش یافت (شکل 2).



شکل 2- مقایسه میانگین قدرت احیاکنندگی در غلظت‌های مختلف عصاره‌های پوست و پالپ انجیر سیاه و سبز

قدرت احیاکنندگی همه عصاره‌های پوست انجیر با افزایش میزان غلظت عصاره‌ها، افزایش یافت. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تأثیر غلظت بر قدرت احیاکنندگی آهن عصاره‌ها و در نتیجه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها معنی‌دار است. سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های پالپ انجیر از طریق قدرت احیاکنندگی اتم آهن III نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های واریته سیاه در همه انواع روش‌های استخراج و در همه غلظت‌های مورد آزمون بیشتر از واریته سبز بود. نتایج محققان دیگر (Ercisli *et al*., 2012؛ Solomon *et al*., 2006؛ Caliskan *et al*., 2011) گواه این مطلب است. نتایج نشان داد ترکیبات موجود در پوست انجیر واریته سیاه دهنده خوب الکترون یا هیدروژن هستند و می‌توانند واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی را پایان دهند. بنابراین می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در رژیم غذایی در نظر گرفته شوند. این نتایج با نتایج Guo و همکاران (2003) مطابقت دارد. این محققان با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست و پالپ و هسته بیست و هشت میوه مصرفی رایج در چین با استفاده از آزمون قدرت احیاکنندگی آهن گزارش کردند که پوست و هسته همه میوه‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نسبت به پالپ داشتند (Guo *et al*., 2003). با افزایش غلظت عصاره‌ها به دلیل افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره، قدرت احیاکنندگی آن بیشتر می‌شود. درنتیجه، عصاره قادر خواهد بود با اهداء الکترون یا اتم‌های هیدروژن، واکنش‌های زنجیری تشکیل رادیکال آزاد را شکسته و اکسایش چربی را به تأخیر بیاندازد (Kumaran and Karunakaran, 2007). آنتی‌اکسیدان‌هایی با قدرت احیاکنندگی بالاتر، از توانایی بیشتری در پایان دادن به واکنش‌های مخرب زنجیره‌ای رادیکالی برخوردارند (Wanasundara and shahidi, 2005). در بین ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری محسوب می‌شوند. افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل با قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد (Koda *et al*., 2008).

این نتایج داده‌های حاصل از آزمون DPPH را تا حدود زیادی تأیید می‌کند. با این تفاوت که روش قدرت احیاکنندگی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی همه عصاره‌های انجیر را در غلظت‌های مختلف با

وضـــوح بیشـــتری نشـــان داد. از آنجایی‌که این روش معمولا برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکســـیدانی ترکیبات هیدروفیل به‌کار می‌رود (Perez-Jimenez *et al.*, 2008) و نیز به دلیل ماهیت هیدروفیلی ترکیبات عمده موجود در عصاره‌های انجیر به‌ویژه واریته سیاه، احتمالا صـحت این روش برای سـنجش فعالیت آنتی‌اکسـیدانی عصـاره‌های انجیر بیشتر قابل قبول است.

تاثیر عصـاره پوسـت انجیر سیاه بر پایداری اکسایشی روغن کانولا طی شرایط حرارتی

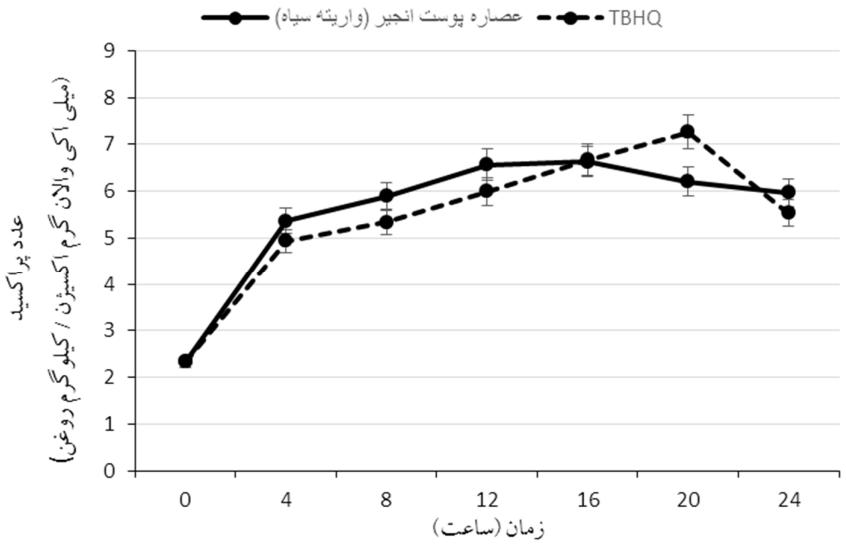
عصاره پوست انجیر سیاه به دلیل داشتن بالاترین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و نیز بیشـــترین فعالیت ضـــد رادیکالی و قدرت احیاکنندگی، در غلظت 1 میلی‌گرم در میلی‌لیتر جهت بررسی پایداری اکسـایشـی روغن کانولا مورد اسـتفاده قرار گرفت و با آنتی‌اکسیدان سـنتزی TBHQ مقایسـه شد. مقادیر اعداد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، دی‌ان مزدوج، OSI، اسیدی و شاخص رنگی نمونه‌های روغن به مدت 24 ساعت در فواصل زمانی 4 ساعت در دمای 180 °C تعیین شـد. مشـخصـات اولیه روغن کانولای فاقد آنتی‌اکسیدان سنتزی در جدول 2 آمده است. میزان بالای عدد پراکسید و دی‌ان مزدوج احتمالا به دلیل شرایط نامناسب حمل و نقل و نگهداری روغن می‌باشد.

جدول 2- مشخصات اولیه روغن کانولای فاقد آنتی‌اکسیدان سنتزی

ویژگی‌ها	مقدار
ترکیبات فنولی	57/53 میلی‌گرم گالیک اسید در گرم روغن
عدد اسیدی	0/123میلی‌گرم پتاس در گرم روغن
عدد پراکسید	2/3 میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن در کیلوگرم روغن
دی‌ان مزدوج	10/78 میلی‌مول در لیتر
عدد تیوباربیتوریک اسید	0/079 میلی‌گرم مالون‌آلدهید در کیلوگرم روغن

عدد پراکسید

شـکل 3 میزان اندیس پراکسـید نمونه‌های روغن را طی شـرایط حرارتی نشان می‌دهد. مقادیر عدد پراکسید نمونه حاوی عصاره جز در سـاعت 20 فرآیند حرارتی تفاوت معنی‌داری با روغن حاوی TBHQ نداشت.



شکل 3- تغییرات عدد پراکسید طی 24 ساعت حرارت‌دهی در دمای 180درجه سانتی‌گراد

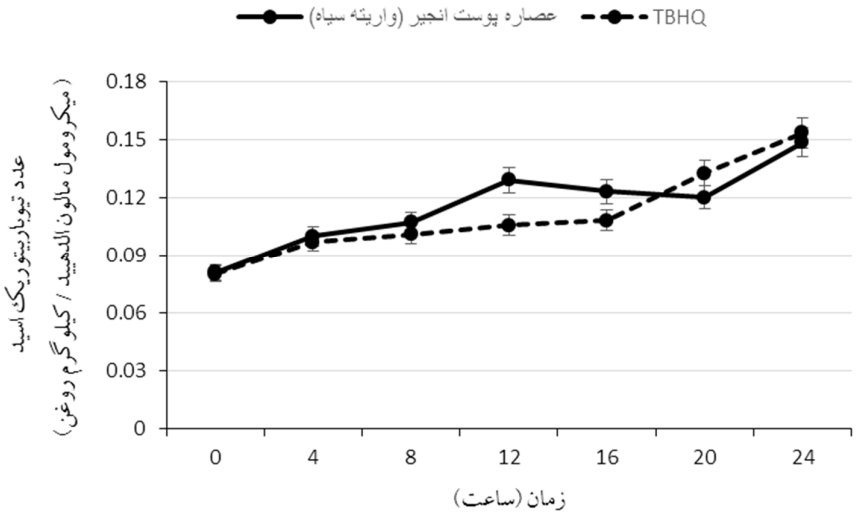
همان‌طور که مشاهده می‌شود عدد پراکسید در نیمه ابتدایی فرآیند حرارتی افزایش و سپس کاهش یافت. با شروع فرآیند حرارتی، میزان هیدروپراکسیدها به‌سرعت افزایش یافت و با افزایش زمان حرارت‌دهی، عصاره پوست انجیر قادر به مهار هیدروپراکسیدهای تشکیل‌شده نبوده،

درنتیجه ترکیبات ناپایدار هیدروپراکسید تحت دمای فرآیند به ترکیبات ثانویه اکسایش نظیر آلدهیدها و کربونیل‌ها تجزیه شدند که عامل طعم و بوی تند روغن می‌باشند (Perkins *et al*., 1967). این الگوی تغییرات عدد پراکسید در مطالعات سرخ‌کردن عمیق روغن توسط Serjouieو همکاران (2010)، Man و همکاران (2005) گزارش شده است. با توجه به نتایج، عصاره پوست انجیر سیاه به خوبی توانست در مهار هیدروپراکسیدها با TBHQ رقابت کند. همچنین، حد مجاز عدد پراکسید برای روغن‌های تصفیه‌شده 10 میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن در کیلوگرم روغن است (Codex, 1999). بر این اساس، مقادیر عدد پراکسید به‌دست آمده در این تحقیق در محدوده مجاز قرار می‌گیرد.

در این تحقیق میزان اندیس پراکسید در نیمه پایانی فرآیند حرارتی کاهش یافت. اما در بعضی مقالات این روند تا ساعات پایانی افزایشی بود، که این موضوع با توجه به میزان بالاتر پراکسیدها در زمان صفر این تحقیق قابل توجیه است. در ساعت 12 فرآیند حرارتی میزان تجمع هیدروپراکسیدها به حدی بود که آنتی‌اکسیدان‌ها قادر به مهار آن‌ها نبودند و درنتیجه تجزیه‌ی هیدروپراکسیدها به محصولات ثانویه اکسایش ازجمله آلدهیدها و کربونیل‌ها شروع شد.

عدد تیوباربیتوریک اسید

همان‌طور که در شکل 4 مشاهده می‌شود در ابتدای فرآیند حرارت‌دهی اختلاف معنی‌داری بین عدد تیوباربیتوریک اسید عصاره پوست انجیر سیاه در غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با TBHQ در غلظت 0/1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتروجود نداشت ولی با افزایش زمان حرارت‌دهی عصاره پوست انجیر نسبت به TBHQ توانایی کمتری در مهار هیدروپراکسیدها نشان داد، درنتیجه مقدار مالون‌آلدهید و عدد TBA افزایش بیشتری یافت. به دلیل این‌که مالون‌آلدهید از محصولات ثانویه اکسایش بوده و از تجزیه محصولات اولیه ازجمله پراکسیدها به‌دست می‌آید، برخلاف اندیس پراکسید با سرعت کمتری افزایش یافت اما روند افزایشی در ساعات پایانی قابل توجه بود که با نتایج تحقیق Delfanian. و همکاران (2015) و Goli و همکاران (2005) همخوانی داشت. همچنین مشاهده شد که تغییرات TBA نمونه حاوی عصاره پوست انجیر سیاه به صورت خطی نبوده و در ساعت 12 تا 20 فرآیند، روند کاهشی داشت که می‌توان این امر را به فراریت ترکیبات مورد اندازه‌گیری و خروج آن‌ها از نمونه تحت دمای بالای حرارت‌دهی نسبت داد. به‌طور کلی عصاره پوست انجیر سیاه در مهار اکسایش و تشکیل مالون‌آلدهید مشابه TBHQ عمل کرد.



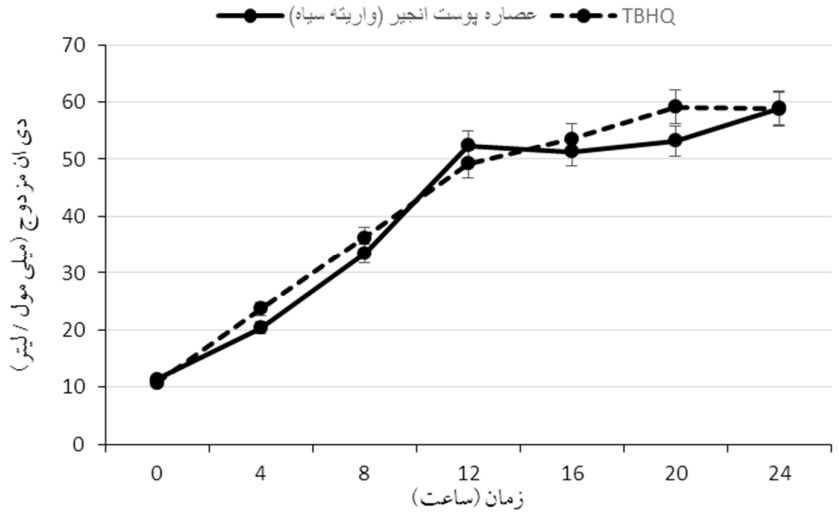
شکل 4- تغییرات عدد تیوباربیتوریک طی 24 ساعت حرارت‌دهی در دمای 180درجه سانتی‌گراد

دی ان مزدوج

تغییرات عدد دی‌ان مزدوج نمونه‌های روغن طی فرآیند حرارتی در شکل 5 نشان داده شده است. در تغییرات دی‌ان مزدوج اختلاف معنی داری بین عصاره پوست انجیر سیاه و TBHQ جز در ساعت 20 فرآیند وجود نداشت. با افزایش زمان در اکثر موارد مقدار تولید ترکیبات دی‌ان مزدوج افزایش یافت که با نتایج فرهوش و همکاران (2009)، White و همکاران (1991) مطابقت داشت. اما همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود روند تغییرات این اندیس در 12 ساعت ابتدایی فرآیند حرارتی، شیب تندتری نسبت به نیمه پایانی داشت. دلیل این الگوی تغییر، احتمالا پلیمریزه شدن ترکیبات دی‌ان مزدوج طبق مکانیسم دیلز-آلدر است که سبب می‌شود این ترکیبات به میزان ثابتی برسند (Tyagi and Vasishtha, 1996).

به‌طوری که میزان این ترکیبات در نمونه روغن حاوی عصاره در نیمه ابتدایی حرارت‌دهی از مقدار اولیه 11/37 میلی‌مول در لیتر به

52/40 رسید، درحالی‌که در 12 ساعت بعدی با تغییر اندکی به 58/88 میلی‌مول در لیتر افزایش یافت. نتایج دی‌ان مزدوج در این تحقیق تغییرات اندیس پراکسید را تایید کرد (شکل 3و 5). چنان‌که از ساعت 12 حرارت‌دهی که تجزیه هیدروپراکسیدها و کاهش مقدار آن‌ها شروع شد، میزان تولید دی‌ان‌های مزدوج نیز کاهش یافت و نمودار آن تقریبا روند ثابتی داشت. Shahidi و Wanasundara (1994)، Farmer و Sutton(2004) و Vieira (2001) نیز در تحقیقات خود رابطه مستقیم و همبستگی خوب عدد پراکسید و دی‌ان مزدوج طی اکسایش روغن‌ها را گزارش کرده‌اند. Jackson (1981) نشان داد که تشکیل هیدروپراکسیدها به‌طور معمول با تشکیل دی‌ان مزدوج در شرایط اکسایش همراه است. برطبق گزارش Silva و همکاران (1999) اکسایش اسیدهای چرب غیراشباع با تشکیل هیدروپراکسیدها و به دنبال آن جابه‌جایی باند دوگانه و تشکیل دی‌ان مزدوج رخ می‌دهد. بنابراین پراکسیدها به علت ناپایداری تجزیه می‌شوند و در نتیجه اندازه‌گیری دی‌ان مزدوج فاکتور بهتری است، چراکه آن‌ها در روغن سرخ‌کردنی باقی می‌مانند.



شکل5- تغییرات دی‌ان مزدوج طی 24 ساعت حرارت‌دهی در دمای 180درجه سانتی‌گراد

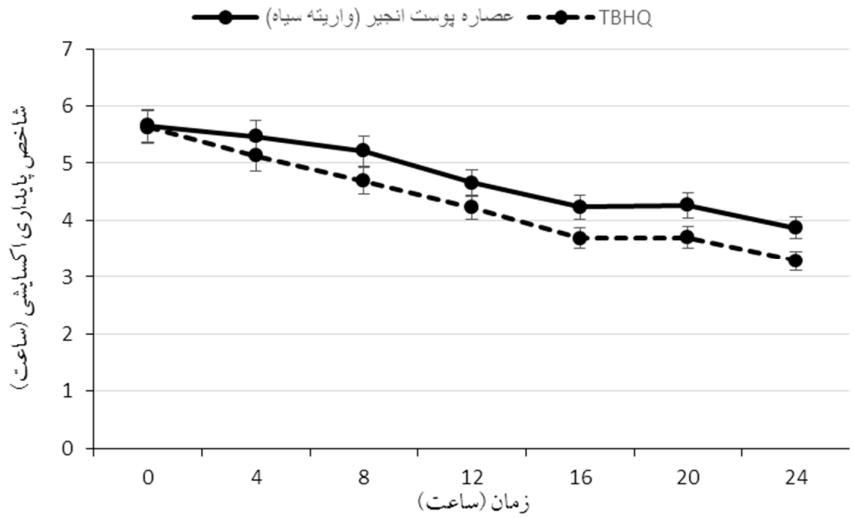
شاخص پایداری اکسایشی

در شکل 6 شاخص پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن نشان داده شده است. شاخص پایداری اکسایشی روغن (OSI) به میزان گسترده‌ای جهت ارزیابی و پیش‌بینی پایداری اکسیداتیو روغن‌ها توسط دستگاه رنسیمت مورد استفاده قرار می‌گیرد. این آزمون بر اساس اندازه‌گیری ضریب هدایت الکتریکی آب ضمن تجمع ترکیبات فرار حاصل از اکسایش روغن به‌ویژه اسیدهای کربوکسیلیک تحت شرایط اکسایش تسریع یافته انجام می‌شود و زمان پایداری روغن (IP) به‌عنوان OSI برای یک روغن در دمای معین گزارش می‌شود. بر اساس نتایج به دست آمده در ساعات ابتدایی فرآیند حرارتی، عصاره پوست انجیر تفاوت معنی‌داری با TBHQ نداشت ($P<0/05$). اما از ساعت 8 فرآیند عصاره پوست انجیر با تفاوت قابل ملاحظه‌ای توانست مقاومت روغن را نسبت به اکسایش بیشتر از TBHQ افزایش دهد. در این تحقیق پایداری اکسایشی (OSI) نمونه‌های روغن کانولای مورد آزمون، با افزایش زمان حرارت‌دهی کاهش یافت. نمونه‌های روغن مورد بررسی حتی با افزایش زمان حرارت‌دهی، در محدوده مجاز OSI روغن‌ها (2/32 ساعت) که توسط فرهوش و موسوی (2006) گزارش شد قرار داشتند. مطالعات Lalas و Dourtoglou (2003) و نیز Ramalho و همکاران (2008) در افزایش پایداری اکسایشی روغن توسط سایر عصاره‌های گیاهی توسط آزمون رنسیمت با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت

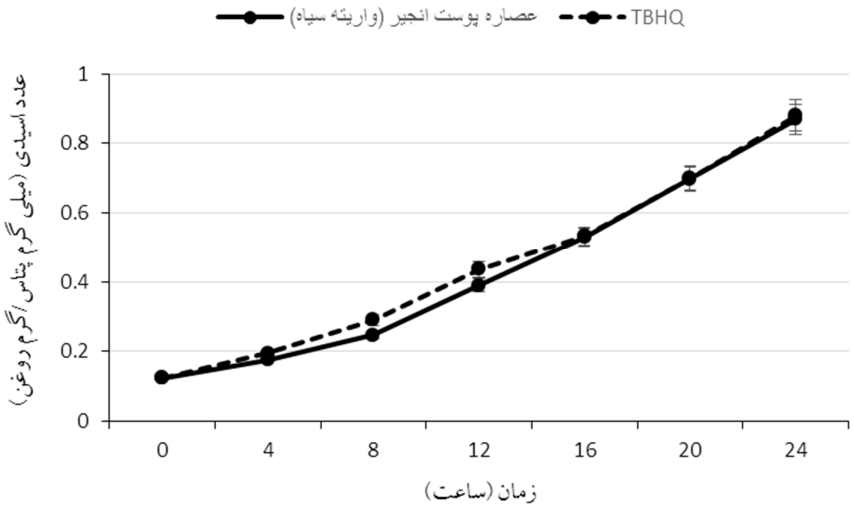
عدد اسیدی

مطابق شکل 7 تقریبا اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین عدد اسیدی روغن حاوی عصاره پوست انجیر سیاه با TBHQ طی فرآیند حرارتی وجود نداشت. عدد اسیدی نمونه‌های روغن با افزایش زمان حرارت‌دهی افزایش یافت اما این افزایش در 12 ساعت دوم فرآیند شیب تندتری داشت. این امر احتمالا به دلیل تبدیل ترکیبات ثانویه اکسایش به اسیدهای کربوکسیلیک می‌باشد. فرهوش و همکاران (2009) ، Delfanian و همکاران (2015) و Rehman و همکاران (2004) نیز به‌طور مشابهی افزایش اسیدهای چرب آزاد را با افزایش زمان حرارت‌دهی گزارش کردند. مقادیر عدد اسیدی نمونه‌های روغن از روز صفر تا پایان دوره بین 0/12 تا بیشترین مقدار 0/88 میلی‌گرم پتاس در هر گرم روغن متغیر بود، که تا 16 ساعت اول حرارت‌دهی در

محدوده‌ی مجاز عدد اسیدی برای نمونه‌های روغن تصفیه شده یعنی 0/6 میلی‌گرم در گرم روغن قرار داشتند (Codex, 1999). بنابراین، عصاره پوست انجیر سیاه طی فرآیند حرارتی، مشابه و حتی بهتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در کنترل اکسایش عمل نمود.



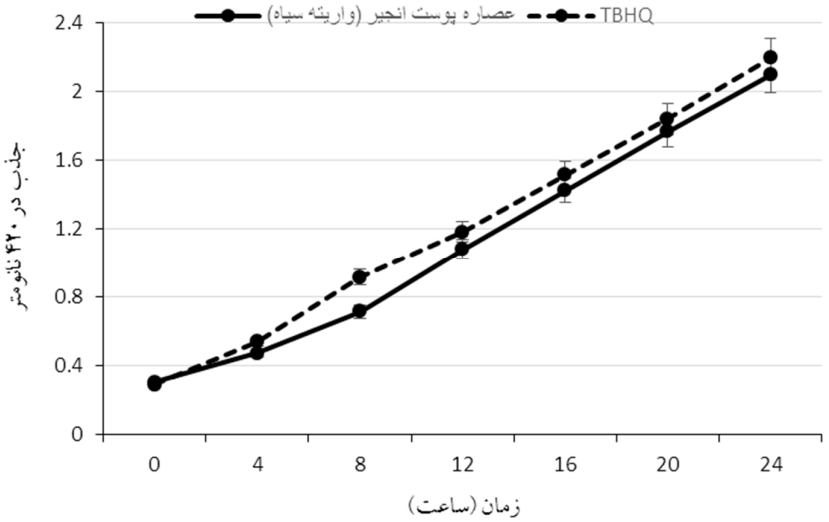
شکل6- تغییرات شاخص پایداری اکسایشی طی 24 ساعت حرارت‌دهی در دمای 180درجه سانتی‌گراد



شکل 7- تغییرات عدد اسیدی طی 24 ساعت حرارت‌دهی در دمای 180درجه سانتی‌گراد

شاخص رنگی

رنگ یک عامل مهم در کیفیت روغن‌های خوراکی است. در این تحقیق رنگ نمونه‌های روغن در طول حرارت‌دهی از زرد به زرد تیره و قهوه‌ای تغییر کرد. نتایج آزمون رنگ‌سنجی نیز روند افزایشی میزان جذب نمونه‌های روغن را در 420 نانومتر نشـان داد (شـکل 8). تیره شـدن رنگ روغن یک فرآیند پیچیده است که شامل برهم‌کنش‌های اسـیدهای چرب، دیمرها و پلیمرها و سـایر ترکیبات جزئی موجود در روغن و احتمالا ترکیبات عصـاره اسـت (Xu *et al*., 1999). جذب رنگ نمونه‌های روغن از ساعت 16 فرآیند حرارتی بالاتر از مقدار مجاز شـاخص رنگی، 1/2 (Farhoosh and Moosavi, 2006) بود، که این امر با توجه به کیفیت اولیه روغن قابل توجیه است. براساس نتایج آماری مشاهده شد که عصاره پوست انجیر سیاه طی فرآیند حرارتی در برابر اکسایش و تشکیل ترکیبات پلیمری حاصل از آن، مشابه و حتی موفق‌تر از TBHQ بود.



شکل 8- تغییرات شاخص رنگی طی 24 ساعت حرارت‌دهی در دمای 180درجه سانتی‌گراد

نتیجه‌گیری

در این مطالعه از روش اولتراسوند جهت استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی پوست و پالپ دو واریته انجیر استفاده شد. نمونه‌های پوست و پالپ واریته سیاه، بالاترین میزان ترکیبات فنولی را داشتند. در استخراج ترکیبات فلاونوئیدی که دسته وسیعی از ترکیبات فنولی هستند در واریته سیاه نسبت به سبز و نیز در پوست میوه نسبت به پالپ بیشتر بود. عصاره پوست انجیر سیاه در غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در روغن کانولا بر اساس آزمون‌های عدد پراکسید، عدد تیوباربیتوریک اسید، OSI، عدد اسیدی، دی‌ان مزدوج و شاخص رنگی در شرایط حرارتی (دمای 180 °C، 24 ساعت) فعالیت خوبی را در کنترل اکسایش نشان دادند. عصاره‌ی پوست انجیر سیاه به‌خوبی توانست در مهار اکسایش با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ رقابت کند بنابراین در غلظت 1 میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌عنوان جایگزین مناسب آنتی‌اکسیدان سنتزی برای تأخیر در اکسایش روغن کانولا پیشنهاد می‌شود.

منابع

Anagnostopoulou, M.A., Kefalas P., Papageorgiou, V.P., Assimepoulou, A.N. and Boskou, D., 2006, Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chemistry*, 94,19–25.

Aydeniz, B., & Yilmaz, E., 2012, Enrichment of frying oils with plant phenolic extracts to extend the usage life. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(8), 933-941.

Bera, D. Lahiri, D., Nag A., 2006, Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *Journal of food engineering*. 74,542-545.

Caliskan, O., Polat, A.A., 2011, Phytochemical and antioxidant properties of selected fig (*Ficus carica* L.) accessions from the .eastern Mediterranean region of Turkey,*Scientia Horticulturae*, 128, 473–478.

Capannesi, C., Palchetti,I., Mascini,M., Parenti,A.,2000, Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section Electrochemical sensor and iosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*, 71,553±562

Çelik, H., Özgen, M., Serçe, S., & Kaya, C., 2008, Phytochemical accumulation and antioxidan capacity at four maturity stages of cranberry fruit. *Scientia Horticulturae*, 117(4), 345-348.

Chen,X.P., Wang,W.X., Li, S.B., Xue,J.L., Fan, L.J., Sheng, Z.J., *et al*., 2010, Optimization of ultrasound-assisted extraction of Lingzhi polysaccharides using response surface methodology and its inhibitory effect on cervical cancer cells. *Carbohydrate Polymers*, 80, 944–948.

Codex Standard for Named Vegetable Oils. CXSTAN 210, Codex Alimentarius: 1999.

Delfanian, M., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Sahari, M. A., 2015, Antioxidative effect of loquat (*Eriobotrya japonica Lindl*.) fruit skin extract in soybean oil. Food Science & Nutrition, 3(1), 74-80.

Du Toit, R., Volsteedt, Y., Apostolides, Z., 2001, Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas

measured as vitamin C equivalents. *Toxicology*, 166, 63–69.

Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Bahramian, F. and Bekhradnia, A. R., 2010, Antioxidant and free radical scavering activity of H.officinalis L. var angustifolius, V.odorata, B.hyrcana and C.speciosum. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 23(1):.29-34.

Ercisli, S., Tosun, M., Karlidag, H., Dzubur, A., Hadziabulic, S., & Aliman, Y., 2012, Color and antioxidant characteristics of some fresh fig (Ficus carica L.) genotypes from northeastern turkey. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67, 271–276.

Esmaeilzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F., & Amiri, Z. R., 2014, Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound□assisted extraction methods. *Food science & nutrition*, 2(4), 426-435.

Farhoosh R, Haddad Khodaparast MH and Sharif A., 2009, Bene hull oil as a highly stable and antioxidative vegetable oil. European Journal of Lipid Science and Technology, 111, 1259-1265.

Farhoosh, R., Moosavi, S.M.R. 2006. Determination of carbonyl value in rancid oils: A critical reconsideration. *Journal Food Lipids*, 13: 298–305.

Farmer, E.H., Sutton, D.A., 1946, Perooxidation in relation to relation to olefinic structure. Trans. *Faraday Society*, 42,228-232.

Flaishman, M. A., Rodov, V., & Stover, E., 2008, The fig: botany, horticulture, and breeding. Horticultural Reviews-Westport Then New York, 34, 113.

Goli, A.H., Barzegar, M., Sahari, M.A., 2005, Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92, 521–525.

Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang, Y., 2003, Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23(12), 1719-1726.

Hassas-Roudsari, M., Chang, P. R., Pegg,R.B. , Tyler,R.T., 2009, Analytical Methods-Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction, *Food Chemistry*, 114, 717–726.

Jackson, H. W., 1981, Techniques for flavor and odor evaluation of soy oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58(3), 227-231.

Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J. M., 2003, Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions, *Food Chemistry*, 83,547–550.

Koda, T., Kuroda, Y., & Imai, H., 2008, Protective effect of rutin against spatial memory impairment induced by trimethyltin in rats. *Nutrition Research*, 28(9), 629-634.

Kumaran, A., & Karunakaran, R. J., 2007, In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. LWT-*Food Science and Technology*, 40(2), 344-352.

Lalas, S., Dourtoglou, V., 2003, Use of rosemary extract in preventing oxidation during deep-fat frying of potato chips. *Journal of the American Oil Chemists' Society***,** 80, 579-583.

Lazreg, A.H., Gaaliche, B., Fekih, A., Mars, M., Aouni, M., Pierre, C.J., Said, K., 2011, In vitro cytotoxic and antiviral activities of Ficus carica latex extracts. *Natural Product Research*. 25, 310–319.

Lee, S. J., Umano, K., Shibamoto, T., & Lee, K. G., 2005, Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (Thymus vulgaris L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91(1), 131-137.

Li, J., Tian, Y., Sun B., Yang, D., Chen, J., Men Q., 2011, Analysis on Volatile Constituents in Leaves and Fruits of Ficus carica by GC-MS. *Chinese Herbal Medicines*, 4(1), 63-69.

Liu, M., Li, X.Q., Weber, C., Lee, C.Y., Brown, J., Liu, R.H., 2002, Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2926–2930.

Macheix, J. J., & Fleuriet, A. 1990. Fruit phenolics. CRC press.

Man, Y. C., Gan, H. L., Tan, C. P., NorAini, I., & Nazimah, S. A. H., 2005, Characterisation of vegetable oils by surface acoustic wave sensing electronic nose. *Food Chemistry*, 89(4), 507-518.

Oyaizu, M., 1986, Studies on products of browning reaction--antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Eiyogaku zasshi- *Japanese journal of nutrition*.

Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F., 2008, Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274-285.

Perkins, E. G., 1967, Characterization of the nonvolatile compounds formed during the thermal oxidation of corn oil. II. Phthalate esters. Journal of the American Oil Chemists' *Society*, 44(3), 197-199.

Piga, A., Del Caro, A., Milella, G., Pinna, I., Vacca, V., Schirru, S., 2008, HPLC analysis of polyphenols in peel and pulp of fresh figs. *Acta Horticulturae*, 798, 301–306.

Pokorný, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M., (Eds.), 2001, Antioxidants in food: practical applications. *Elsevier*.

Pratt, D., Hudson, BJF., 1990, Natural antioxidants not exploited commercially. In: Hudson BJF, editor. *Food antioxidants*. New York: Elsevier, P171-91.

Ramalho, V.C., Jorge, N., 2008. Antioxidant action of Rosemary extract in soybean oil submitted to thermoxidation,

Grasay *Aceites*, 59 (2), 128-131.

Rehman, Z.U, Habib, F, Shah, W.H., 2004, Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chemistry*, 85, 215 – 220.

Saguy,I.S., Shani,A., Weinberg,P., Garti,N.,1996, Utilization of Jojoba Oil for Deep-fat Frying of Foods, Lebensm.-Wiss. u. - *Technology.*, 29, 573–577.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., Saura-Calixto, F., 1999, Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*, 32,407-412.

Serjouie, A., Tan, C.P., Mirhosseini, H. & Che Man, Y.B., 2010, Effect of vegetable-based oil blends on physicochemical properties of oils during deep-fat frying. *American Journal of Food Technology*, 5, 310-323.

Shahidi, F., Wanasundara, U.N., Brunet, N., 1994, Oxidative stability of oil from blubber of harp seal (Phoca groenlandica) as assessed by NMR and standard procedures. Food Research**,** *International*, 27,555-562.

Sidwell, C.G., Salwin, H., Benca, M., Mitchell, J.H., 1954, The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *The* Journal *of the American oil Chemists Society*, 31,603-606.

Silva, F.A.M., Borges, M.F.M., Ferreira, A.A,. 1999, Methods for the evaluation of the degree of lipid oxidation and the antioxidant activity. *Química Nova*, 22, 94-103.

Silva, B.M., Andrade, P.B., Valentم, P., Ferreres, F., Seabra, R.M., Ferreira, M.A., 2004, Quince (Cydonia oblonga Miller) fruit (pulp, peel and seed) and jam: antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 4705–4712.

Solomon, A., Golubowicz, S., Yablowicz, Z., Grossman, S., Bergman, M., Gottlieb, H., Altman, A., Kerem, Z., Flaishman, M.A., 2006, Antioxidant activities and anthocyanin content of fresh fruits of common fig (*Ficus carica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7717–7723.

Treutter, D., 2006, Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 4(3), 147-157.

Tyagi, V. K., & Vasishtha, A. K., 1996, Changes in the characteristics and composition of oils during deep-fat frying. Journal of the American Oil Chemists' *Society*, 73(4), 499-506.

Vallejo, F.,marin, J.G., tomas –Barberan,F.A., 2012, Phenolic compound content of fresh and dried figs (*Ficus carica* L.). *Food Chemistry*, 130, 485–492.

Vieira, T. M., & Regitano-d'Arce, M. A., 2001, Canola oil thermal oxidation during oven test and microwave heating. LWT-*Food Science and Technology*, 34(4), 215-221.

Wanasundara, P.K., and shahidi, F., 2005, Antioxidants: science, technology, and applications. In Bailey,s industrial oil and fat products. Shahidi, F., (Eds). John Wiley and Sons, Inc. *New Jersey*.

Wang, L. & Weller, C.L., 2006, Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 300-12.

White, P.J., 1991, Methods for measuring changes in deep-fat frying oils. *Food Technology*, 45, 75-80.

Xu, X.-Q., Tran, V.H., Palmer, M., White, K., and Salisury, P., 1999, Chemical and physical analyses and sensory evaluation of six deep-frying oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76, 1091-1099.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 503-516

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 516-503

Evaluating antioxidant properties of pulp and skin of fig extracts and application in canola oil as replacing synthetic antioxidant

E. Maghsoudlou[1], R. Esmaeilzade Kenari[2*], Z. Raftani Amiri[2]

Received: 2015.11.07
Accepted: 2016.04.23

Introduction: Lipid oxidation is a complex series of reactions that occurs during processing, storage and final preparation of foods containing lipids (Bera *et al*., 2006). Among the various methods of protection against oxidation, specific additives are used which are antioxidants (Pokorny *et al.*, 2006).Polyphenols are natural antioxidants that possess characteristic properties, such as free-radical scavenging and inhibition of oxidizing processes in the body. For using of phenolic compound, they must be extracted from plant material. Traditional methods of extraction are labor-intensive, time consuming, and require large volumes of solvent (Wang and Weller, 2006). In recent years, ultrasound-assisted extraction (UAE) has become an effective method for edible oils and fats from natural product extraction. UAE is an inexpensive, simple and efficient alternative to conventional extraction techniques (Chen *et al*., 2010). The mechanism of UAE is attributed to mechanical and cavitation efficacies which can result in disruption of cell wall, particle size reduction, and enhanced mass transfer across cell membrane (Wang, Wu, Chen, Yue, Liang, & Wu, 2013). Figs are an excellent source of phenolic compounds and some studies have described the presence of several phenolic compounds in this species (Solomon et al., 2006; Teixeira *et al*., 2006; Vaya and Mahmood, 2006). However, according to our knowledge, there are no studies about the detailed investigation of different parts of the fig and evaluation of its oxidative stability. Therefore, the objective of this study was to evaluate antioxidant activity of pulp and skin of two varieties of fig (Siyah and Sabz) and its application as natural antioxidant in canola oil.

Material and methods: Fig fruit (*F. carica* L.) from two selected commercial varieties: Siyah and Sabz wwere collected from Gorgan, Iran in September 2014. Canola oil was purchased from Alia Golestan Company (Kordkooy, Iran). All other chemicals used in this study were of analytical grade and were purchased from chemical suppliers such as Merck and Sigma-Aldrich Chemical Companies.

The figs were weighed and immediately peeled. The pulp was cut and made into flat sheets. Thereafter, the pulp and skin of each fruit were shade-dried for 5 days followed by drying at 60 ℃ in an oven for 24 hours to ensure complete drying (Memmert 100-800, Germany). The samples were then milled and sieved. Samples obtained were kept in polyethylene bags.

Dried fig powders were mixed with ethanol (1:10), then placed in ultrasonic bath, and then sonicated at 37 kHz for 20 min at 40°C by Elma Transsonic ultrasonic bath model 690/H (Cottbus, Germany). The extract was filtered and subsequently evaporated at 40 ℃ in an oven. The concentrated extracts were stored at -18° C until further analyses (EsmaeilzadehKenari et al., 2014).Extracts were used in concentrations of 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 and 3 mg/ml.

Phenolic compounds and flavonoids were measured by Folincio-calteu and aluminum chloride, respectively. The antioxidant activity of the extracts was evaluated using DPPH and reducing power tests. Then we assessed the efficiency of extract of skin fig of Siyah variety at 1 mg/ml the oxidative stability using Peroxide, thiobarbituric acid, conjugate di en, acid value, Oxidativestabilityindexand colorindex in canola oil during thermal conditions (180 ℃, 24 hours) compared with Synthetic antioxidants of TBHQ.

Results and discussion: The fig extracts contained different antioxidative fractions which were able to inhibit lipid oxidation effectively, by different mechanisms of action. Antioxidant activity of Siyah variety extract was higher than that of Sabz variety extract; furthermore, skin extracts were found to render higher antioxidant activity than pulp extracts. The stabilization effect of Siyah fig skin extract on canola oil (using peroxide, thiobarbituric acid, conjugate di en, acid values, oxidative stability index and color index) was comparable

1 and 2. MSc Graduate and Associate Professor, Department of Food science, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
(Corresponding author's Email: reza_kenari@yahoo.com)

with the synthetic antioxidant (TBHQ).Therefore, skin of Siyah fig can be used as a potent source of natural antioxidant in food system.

Key words: Fig, pulp, Skin, Ultrasound, Antioxidant activity, Oxidative stability

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 517-527

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 527-517

اثر حلال‌های مختلف و امواج فراصوت بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه زغال اخته

فروغ گیلانی[1]- زینب رفتنی امیری[2*]- رضا اسماعیل‌زاده کناری[2]

تاریخ دریافت: 1394/11/20
تاریخ پذیرش: 1394/04/19

چکیده

میوه زغال اخته به دلیل داشتن ترکیبات ارزشمند فراوانی مانند ترکیبات فنولی، منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است و می‌تواند به‌عنوان گیاه دارویی در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه، تاثیر روش‌های استخراج (غرقابی و اولتراسوند) و حلال (اتانول100%، آب- اتانول به نسبت 50:50 حجمی-حجمی و آب) بر میزان ترکیبات فنولی استخراجی و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه زغال اخته مورد بررسی قرار گرفت. محتوای فنول کل عصاره‌ها با روش فولین سیوکالتیو تعیین شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از سنجش قدرت احیاکنندگی آهن III و مهار رادیکال‌های آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که نوع حلال و روش استخراج بر مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌ها تاثیر گذار بوده است و همچنین وابستگی غلظت ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در همه عصاره‌ها مشاهده شد. بالاترین مقدار ترکیبات فنولی با 142/72 میلی‌گرم بر گرم (برحسب اسید گالیک) متعلق به عصاره میوه زغال اخته حاصل از حلال آب- اتانول (50:50 حجمی/ حجمی) به کمک روش اولتراسوند بوده است. هم چنین این عصاره با کمترین IC50 با مقدار 0/955 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و بالاترین جذب با مقدار 0/601 در آزمون قدرت احیاکنندگی آهن III، بالاترین کارایی آنتی‌اکسیدانی را نشان داده است.

واژه‌های کلیدی: میوه زغال اخته، غرقابی، اولتراسوند، حلال، خواص آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

میوه‌ها و سبزی‌ها، منابع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فنول‌ها به‌عنوان گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه جدا شده از گیاهان شناخته شده اند (Pawlowska *et al*., 2010; Stankovic *et al*., 2014). رادیکال‌های آزاد، اتم‌ها یا گروهی از اتم‌ها هستند که حداقل یک الکترون جفت نشده دارند و همین عامل، آن‌ها را بسیار واکنش‌پذیر ساخته است. آنتی‌اکسیدان‌ها با دادن یک الکترون به رادیکال آزاد، آن‌ها را غیرفعال نموده و از تاثیرات منفی آن‌ها جلوگیری می‌کند و به این ترتیب موجب به تعویق انداختن واکنش اکسیداسیون، به حداقل رساندن فساد مواد غذایی، حفظ کیفیت تغذیه‌ای و افزایش عمر نگهداری می‌شود (Stankovic *et al*., 2014; Sushma *et al*., 2014). زغال اخته با نام علمی(*Cornus mas* L.)، یک گیاه وحشی است که به‌طور گسترده در آسیا و اروپا رشد می‌کند (Karasakal, 2015). محل رویش این میوه در ایران در مناطقی مانند قزوین و ارسباران است (Hassanpour *et al*., 2011). میوه رسیده زغال اخته به رنگ قرمز و ترش مزه است (Karasakal, 2015). این میوه دارای خاصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی است و به‌عنوان داروی گیاهی در طب مورد استفاده قرار می‌گیرد (Stankovic *et al*., 2014). میوه تازه زغال اخته، دارای مقادیر بالای مواد معدنی مانند آهن و کلسیم است. میوه تازه آن همچنین دارای مقادیر بالای ویتامین‌های دیگری مانند آلفا توکوفرول، بیوتین و ریبوفلاوین است (Narimani-Rad *et al*., 2013). Tural و همکاران (2008)، در پژوهشی با بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی میوه زغال اخته بیان نمودند که این میوه غنی از ترکیبات فنولی، آنتوسیانین و اسید آسکوربیک است. استخراج مواد گیاهی با روش غرقابی به‌وسیله استفاده از حلال‌های شیمیایی انجام می‌شود و بازده عصاره به نوع حلال بستگی دارد (Sushma *et al*., 2014). زمان طولانی استخراج و مصرف بالای حلال و مقدار بازده پایین از معایب روش استخراج غرقابی است (Karasakal, 2015). در سال های اخیر، اولتراسوند به‌عنوان یک روش جدید برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرد که نسبت به روش غرقابی، موجب افزایش مقدار بازده در زمان کوتاهتر استخراج می‌گردد (Rouhani *et al*., 2014). بهبود روش

---

1 و 2- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی،دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی ساری، مازندران
(* - نویسنده مسئول: Email: zramiri@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.53710

استخراج حلالی مواد گیاهی به‌وسیله اولتراسوند اساساً به علت تاثیرات مکانیسم پدیده کاویتاسیون است که با شکستن دیواره سلولی، انتقال جرم و نفوذ حلال را به مواد گیاهی افزایش می‌دهد(Rouhani *et al.*, 2014). هدف از این پژوهش، تاثیر امواج فراصوت و حلال‌های مختلف استخراج بر میزان ترکیبات فنولی استخراج شده و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل از میوه زغال اخته می باشد.

مواد وروش‌ها

مواد

الکل اتانول100%، معرف فولین‌سیوکالتیو و تری‌کلرواستیک اسید ساخت شرکت مرک و بافر سدیم فسفات (PH=6/6)، فری سیانیدپتاسیم و فریک کلراید ساخت شرکت سیگما آلدریچ مورد استفاده قرار گرفت

آماده سازی نمونه

میوه زغال اخته متعلق به منطقه قزوین، از بازار محلی شهرستان آمل به‌صورت تازه در شهریور 1393 تهیه گردید. سپس بعد از تمیز کردن، شستشو و جدا کردن هسته از میوه، بر روی پارچه و در مقابل نور آفتاب به مدت 5 روز خشک گردید. میوه خشک شده با آسیاب الکتریکی (مدل719 moulinex type، فرانسه) پودر و درکیسه‌های نایلونی در فریزر 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

استخراج عصاره با روش حلالی (غرقابی)

استخراج ترکیبات فنولی به روش غرقابی با استفاده از روش Esmaeilzadeh Kenari و همکاران(2014) انجام شد. حلال انتخابی(آب مقطر، اتانول و آب-اتانول با نسبت50:50 حجمی/ حجمی(V/V)) برای عملیات استخراج به روش غرقابی در دمای محیط منظورشد. مقدار 10 گرم نمونه پودر میوه زغال اخته را با نسبت 1 به 10 وزنی/ حجمی(W/V)، با 100 میلی‌لیتر از هر یک از حلال‌ها مخلوط گردید. مخلوط هر نمونه و حلال به مدت 24 ساعت در دمای اتاق روی شیکر (Fan Azma Gostar) با سرعت 140 دور دردقیقه (rpm) قرار داده شد پس از آن مخلوط حاصل با استفاده از پمپ خلا و قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شماره 42 صاف گردید، در پلیت ریخته شد و در آون با دمای 55 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا عصاره کاملا خشک و عاری از حلال شود. سپس عصاره‌های استخراجی حاصل تا زمان انجام آزمایشات بعدی در فریزر 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

استخراج عصاره با روش اولتراسوند

استخراج ترکیبات فنولی به روش اولتراسوند با استفاده از روش Goli و همکاران (2005) انجام شد. عصاره مطابق مراحل استخراج غرقابی تهیه گردید با این تفاوت که مخلوط نمونه وحلال در معرض امواج فراصوت با فرکانس 37 کیلوهرتز در دمای 3±35 درجه سانتی‌گراد به مدت 45 دقیقه در حمام اولتراسوند (مدل S30H Elma، آلمان) قرار گرفت و برای جلوگیری از افزایش دما، از گردش آب سرد در مدت زمان استخراج استفاده شد.

ترکیبات فنولی

میزان کل ترکیبات فنولی عصاره میوه زغال اخته با استفاده از معرف فولین‌سیوکالتیو و مطابق روشEsmaeilzadeh Kenari و همکاران (2014) انجام شد. برای این منظور به 0/5 میلی‌لیتر عصاره، 2/5 میلی‌لیترمعرف (نسبت 1 به 10 با آب مقطر رقیق شده بود) و 2 میلی‌لیتر سدیم کربنات 7/5 درصد اضافه کرده و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری و با استفاده ازدستگاه اسپکتروفتومتر (یونیکو uv,vis 2100) جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج 760 نانومتر قرائت شد. غلظت ترکیبات فنولی بر حسب اسید گالیک با استفاده از منحنی استاندارد رسم شده با معادله (1) و R^2= 0/9903 محاسبه شد که y میزان جذب خوانده شده در طول موج 760 نانومتر و X غلظت فنول بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است.

$$y = 0/0494 + 1/6507X \qquad (1)$$

ارزیابی فعالیت مهار رادیکال های آزاد DPPH

توانایی مهار رادیکال آزاد 2,2′-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical مطابق روش Esmaeilzadeh Kenari و همکاران (2014) انجام شد. ابتدا محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (3000-500 میکروگرم در میلی‌لیتر) از عصاره‌ها آماده شدند. سپس0/3 میلی‌لیتر از عصاره را با 2/7 میلی‌لیتر از محلول متانولیDPPH (با غلظت 6×10^{-5} مولار) به شدت مخلوط کرده و به مدت 60 دقیقه در مکانی تاریک نگهداری کرده و جذب آن در طول موج 517 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (یونیکو uv,vis 2100) خوانده شد. در نهایت درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه شد.

درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH = ((جذب نمونه - جذب DPPH) / جذب DPPH) ×100 (2)

ارزیابی قدرت احیا کنندگی آهن III

اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی با استفاده از روش به‌کار گرفته توسط Farhoosh و همکاران (2007) انجام شد. ابتدا محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (3000-500 میکروگرم در میلی‌لیتر) از عصاره‌ها تهیه گردید. 1 میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف محلول عصاره را در لوله‌های فلکون جداگانه با 2/5 میلی‌لیتر بافر فسفات (0/2 مولار با

pH = 6/6) مخلوط کرده و به آن مقدار 2/5میلی‌لیتر فری‌سیانید پتاسیم (1% وزنی/ حجمی) اضافه کرده و به مدت 30 دقیقه در دمای 50 درجه سانتی‌گراد گرم خانه‌گذاری نموده و سپس به آن، 2/5 میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (10% وزنی/ جمی) افزوده و آن گاه با استفاده از سانتریفوژ با دور 1000 g، به مدت 10 دقیقه مخلوط را سانتریفوژ کرده و سپس از فاز فوقانی مقدار 2/5 میلی‌لیتر برداشته و با 2/5 میلی‌لیتر آب مقطر و 0/5 میلی‌لیتر کلریدآهنIII (0/1% وزنی/ ججمی) مخلوط کرده آن گاه جذب محلول بدست آمده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (یونیکو uv,vis 2100) در طول موج 700 نانومتر اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

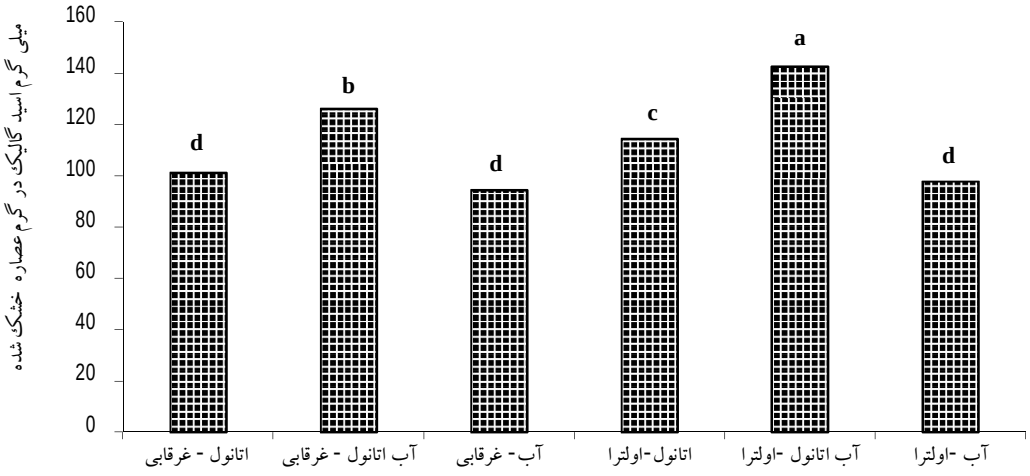
بررسی اثر روش استخراج اولتراسوند و غرقابی به کمک حلال‌های مختلف (آب، اتانول و آب- اتانول) بر میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، بر پایه طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح معنی‌داری 5 % صورت گرفت. آنالیز کلیه داده‌ها با نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

میزان ترکیبات فنولی

شکل 1 مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌های حاصل از حلال‌ها و روش‌های مختلف استخراج را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع حلال و روش استخراج، تاثیر معنی‌داری ($P < 0/05$) بر مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌ها دارد. با توجه به شکل 1، بیشترین مقدار ترکیبات فنولی متعلق به حلال آب- اتانول (50:50) به کمک روش اولتراسوند می‌باشد. همچنین با توجه به شکل 1، ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های آبی کمتر از عصاره‌های الکلی و عصاره‌های حاصل از روش اولتراسوند نسبت به غرقابی بالاتر می‌باشد. پدیده کاویتاسیون تولید شده در حلال در طی فرآیند استخراج به وسیله اولتراسوند می‌تواند موجب افزایش مقدار استخراج ترکیبات فنولی نسبت به روش غرقابی گردد که ویژگی‌های حلال مانند فشار بخار، کشش سطحی و ویسکوزیته می‌تواند روی شدت کاویتاسیون ایجاد شده تاثیرگذار باشد. تاثیر فشار بخار در اولتراسوند می‌تواند به تولید حباب‌های کاویتاسیون بستگی داشته باشد. بدین صورت که حلال‌هایی با فشار بخار پایین‌تر، تعداد اندکی حباب‌های کاویتاسیون را تولید کرده که به انرژی بالاتر برای فروپاشی نیاز دارند بنابراین در طول فرآیند استخراج، بافت گیاهی با شدت بیشتری تخریب می‌شود. در مورد ویژگی ویسکوزیته حلال، هرچه مقدار آن، پایین‌تر باشد موثرتر است زیرا انرژی اولتراسونیک آسان تر بر نیروی بین مولکولی مایع با ویسکوزیته پایین غلبه می‌کند و همچنین به علت چگالی پایین و ضریب پخش بالا در حلال با ویسکوزیته پایین، به آسانی به بافت‌های گیاهی نفوذ می‌کند. کشش سطحی حلال ویژگی دیگر تاثیرگذار است که در حلال با کشش سطحی پایین، انرژی اولتراسونیک به‌کار برده شده می‌تواند به آسانی کشش سطحی را افزایش داده و در نتیجه حباب‌های کاویتاسیون آسان‌تر ایجاد می‌شود (Ghasemzadeh *et al*., 2015). در مورد حلال‌های به‌کار رفته در آزمایش، با توجه به این که اتانول دارای ویسکوزیته و فشار بخار بالاتر و کشش سطحی پایین‌تر (به‌ترتیب cp 1/2، 59/02 mmHg و 23/78 mN/cm) نسبت به آب (به‌ترتیب cp 0/89، 23/8 mmHg و 72/8 mN/cm) است. بنابراین ترکیب حلال آب- اتانول می تواند با داشتن هر دو ویژگی موثرتر عمل می‌کند. فنول‌ها ترکیباتی هستند که شامل یک یا بیشتر گروه هیدروکسیل (بخش قطبی) است که به یک حلقه آروماتیک (بخش غیرقطبی) متصل شده‌اند که این ساختمان فضایی، فنول‌ها را مطابق با قطبیتشان متمایز می‌کند بنابراین حلالیت فنول‌ها در حلال، می‌تواند به‌وسیله این ساختمان فضایی (بخش قطبی و غیرقطبی در مولکول‌های آن) و نیروی بین مولکولی (اساسا پیوند هیدروژنی) که بین آن‌ها با حلال ایجاد می‌شود توضیح داده شود(Galanakis *et al*., 2013). استفاده از آب به‌عنوان حلال استخراج، یک محیط بسیار قطبی ایجاد می‌کند که برای استخراج ترکیبات بیواکتیو با قطبیت زیاد مناسب است در حالی که آب- اتانول یا اتانول برای استخراج ترکیبات بیواکتیو با رنج وسیعی از قطبیت مناسب است که این به علت وجود محیط نسبتاً قطبی است که در اثر افزودن آب به حلال آلی، ایجاد می‌گردد (Sun *et al*., 2015). از طرف دیگر برای تورم مواد سلولی، آب مورد نیاز است بنابراین با حضور مقادیر مناسب آب در حلال آلی، نفوذپذیری دیواره سلولی افزایش می‌یابد و می‌تواند به آسانی به محض فرآیند اولتراسوند شکسته شود اما در اتانول مطلق (100%)، هیچ آب در دسترسی برای تورم سلول‌ها وجود ندارد بنابراین ترکیب این 2 حلال (غلظت 50% آب- اتانول)، بهینه و موثر خواهد بود (Charpe *et al*., 2014). گزارش شده است که حلال‌های اتانول و متانول به‌صورت مخلوط با آب توانایی بیشتری به علت قطبیت بالاتر نسبت به حلال خالص الکلی خود در استخراج ترکیبات فنولی دارند (Sultana *et al*., 2009). در این مطالعه، آب با وجود قطبیت بالا نسبت به حلال‌های آب- اتانول و اتانول توانایی کمی در استخراج ترکیبات فنولی نشان داد. آب در طی فرآیند استخراج احتمالا، با حل کردن پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و دیگر ترکیبات قطبی، موجب کاهش خلوص عصاره و بازده پایین ترکیبات فنولی شده است. از طرفی این نتیجه احتمالا به دلیل ماهیت نیمه قطبی و قطبیت کمتر ترکیبات فنولی میوه زغال اخته بوده که به مقدار کمتری در آب حل گردیده است. در پژوهشی که توسط Ghasemzadeh و همکاران

(2015)، بر روی عصاره سبوس برنج انجام شد بیشترین مقدار ترکیبات فنولی 288/40 میلی‌گرم اسید گالیک در 100گرم ماده خشک مربوط به عصاره استخراجی با روش اولتراسوند، آب- اتانول (50:50) نسبت به روش غرقابی،آب- اتانول (50:50) با مقدار 270/51 میلی‌گرم اسید گالیک در 100گرم ماده خشک گزارش کردند که این مقادیر به‌ترتیب از روش اولتراسوند، اتانول و غرقابی،اتانول بالاتر بوده است که از نظر میزان فنول استخراج شده با یافته‌های این پژوهش متفاوت اما از لحاظ روش‌ها و حلال‌ها در استخراج ترکیبات فنولی نسبت به یکدیگر با این مطالعه مطابقت دارد. در گزارشی توسط Nazir و همکاران (2013) بر روی مقدار ترکیبات فنولی خرمالو با حلال‌های مختلف، بالاتر بودن مقدار ترکیبات فنولی عصاره آب- اتانول خرمالو به‌ترتیب نسبت به عصاره اتانولی و آبی را، توانایی آب– اتانول برای حلالیت بیشتر ترکیبات فنولی موجود در این میوه دانستند که مشابه نتایج این پژوهش می‌باشد.



شکل1- مقایسه میانگین ترکیبات فنولی عصاره‌های حاصل از حلال‌ها و روش‌های مختلف استخراج.

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 5% است.

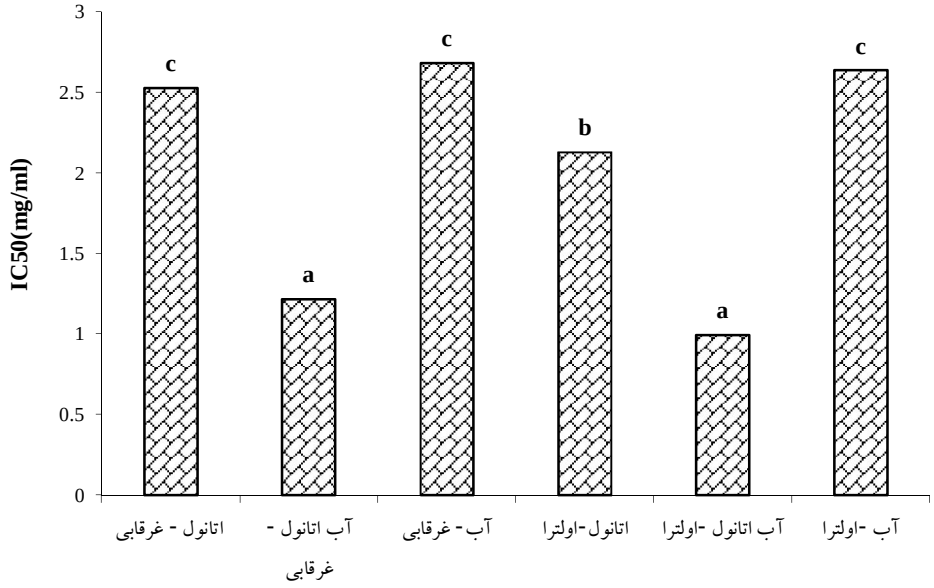
توانایی مهار رادیکال DPPH

آزمون مهارکنندگی رادیکال DPPH، یکی از روش‌های مهم و نسبتا سریع که مقدار توانایی عصاره را برای اهداء هیدروژن یا برای مهارکنندگی رادیکال آزاد می‌سنجد. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که دارای ماکسیمم جذب در طول موج517 نانومتر است. در اثر واکنش DPPH با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی یا ترکیبات‌دهنده هیدروژن، کاهش در جذب آن اتفاق می‌افتد که به‌صورت تغییر رنگ از بنفش به زرد قابل مشاهده است (Ramazan *et al*., 2011; Ansari *et al*., 2013). شکل 2 فعالیت بازدارندگی عصاره حاصل از روش‌ها، حلال‌ها و غلظت‌های مختلف استخراج را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع و غلظت عصاره‌ها تاثیر معنی‌داری ($P< 0/05$) بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد داشتند. همانطور که در شکل 3 مشاهده می‌شود با افزایش غلظت در همه عصاره‌ها، میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد افزایش می‌یابد که به‌علت افزایش مقدار ترکیبات فنولی در غلظت بالاتر عصاره است. توانایی مهارکنندگی ترکیبات فنولی روی رادیکال‌های آزاد به علت گروه هیدروکسیل آن‌ها است که با افزایش غلظت ترکیبات فنولی، تعداد گروه‌های هیدروکسیل در محیط واکنش افزایش یافته و در نتیجه احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال آزاد DPPH و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Stankovic *et al*., 2011; Delfanian *et al*., 2015). مطابق شکل 2، بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH، متعلق به عصاره حاصل از روش اولتراسوند به کمک حلال آب- اتانول(50:50) بوده که بالاترین مقدار ترکیبات فنولی را داشته است و کمترین درصد مهار مربوط به عصاره‌های آبی است. مقدار IC50 محاسبه شده برای عصاره‌های استخراجی نیز نشان داد که اختلاف آماری معنادار ($P<0/05$) با یکدیگر دارند و کمترین IC50 با مقدار 0/955 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مربوط به عصاره استخراجی با روش اولتراسوند به کمک حلال آب- اتانول (50:50) بوده که نشان‌دهنده کارایی آنتی‌اکسیدانی بالاتر این عصاره می‌باشد

بدین معنا که در غلظت پایین‌تری، توانایی مهار 50% رادیکـال‌هـای DPPH را دارد(شکل3).

شکل2- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH غلظت‌های مختلف عصاره‌های حاصل از حلال‌ها و روش‌های مختلف استخراج.

حروف غیرمشابه در هر غلظت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 5% است.



شکل3- IC50 عصاره میوه زغال اخته حاصل از حلال‌ها و روش‌های مختلف استخراج.

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 5% است.

Yolmeh و همکاران (2015)، در مطالعه‌ای بر روی تاثیر روش‌های مختلف استخراج بر عصاره آناتو[1] گزارش گردند که عصاره حاصل از روش اولتراسوند توانایی بالاتری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به روش استخراج مرسوم نشان داده است که مشابه این پژوهش می‌باشد. نتایج مطالعه Ling و همکاران (2009)، بر روی برگ‌های انبه نشان داد که بالاترین مقدار ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای مهارکنندگی رادیکال آزاد در عصاره اتانولی و کمترین برای عصاره آبی بوده است این محققان مقدار IC50 برای فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره‌ها را در محدوده 0/02 تا 0/49 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که کمتر از نتایج حاصل از این مطالعه است. Rezaeizadeh و همکاران (2011)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی و کلروفرمی گیاه مموردیکا کرنشا[2] را بررسی کردند این محقان افزایش درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد در عصاره متانولی نسبت به کلروفرمی را به افزایش در مقدار ترکیبات فنولی در آن‌ها نسبت دادند و بیان کردند که یک رابطه خطی بین مقدار کل ترکیبات فنولی و توانایی مهارکنندگی DPPH وجود داشت که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

قدرت احیا کنندگی آهن III

قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها، توانایی آن‌ها را برای احیای آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی نشان می‌دهد. حضور آنتی‌اکسیدان‌ها (احیاکننده‌ها) در عصاره که دهنده الکترون هستند منجر به احیای کمپلکس‌های فری سیانید و تبدیل آن‌ها به فرم فروس می‌شود که بسته به احیاکنندگی عصاره‌های مورد آزمایش، رنگ زرد محلول به درجات مختلفی از رنگ سبز و آبی تغییر می‌کند (Do *et al.*, 2013). شکل 4، مقایسه میانگین مقدار قدرت احیاکنندگی عصاره آبی، الکی و هیدروالکلی حاصل از روش‌های استخراج اولتراسوند و غرقابی را در غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که عصاره‌های مختلف از نظر قدرت احیاکنندگی، اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) با یکدیگر دارند. همانطور که در شکل4 مشاهده می‌شود با افزایش غلظت عصاره در همه روش‌ها، قدرت احیاکنندگی افزایش می‌یابد. مطابق شکل 4، بیشترین قدرت احیاکنندگی متعلق به عصاره حاصل از روش اولتراسوند-آب- اتانول (50:50) است که بالاترین غلظت ترکیبات فنولی را داشته است و کمترین قدرت احیاکنندگی در عصاره‌های آبی بوده است. همچنین با توجه به شکل4، قدرت احیاکنندگی عصاره‌های اتانولی نسبت به آبی و عصاره‌های حاصل از روش اولتراسوند نسبت به غرقابی، بالاتر می‌باشد. بر اساس یافته‌های این تحقیق، نمونه‌های حاوی ترکیبات فنولی بالاتر، قدرت احیاکنندگی بالاتری هم داشته‌اند. ترکیبات فنولی عصاره‌ها می‌توانند با اهدای الکترون یا اتم‌های هیدروژن، واکنش‌های زنجیری رادیکال‌های آزاد را شکسته و اکسایش را به تاخیر می‌اندازد، وجود عوامل احیاکننده عامل اصلی قدرت احیاکنندگی است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از طریق شکستن واکنش زنجیری رادیکال آزاد انجام می‌دهند (دولت‌آبادی و همکاران، 1393). Sultana و همکاران(2009)، با بررسی قدرت احیاکنندگی عصاره گیاهان دارویی (برگ و ریشه گیاه مورینگا الیفرا[3]، پوست گیاهان یوجینیا جامبلانا[4]، اکیشا نایلوتیکا[5]، ازادیراچتا ایندیکا[6] و ترمینلیا آرجونا[7]، میوه فیکس ریلیجیاسا[8] و برگ گیاه الوئه باربدنسس[9])، بیان نمودند خاصیت احیاکنندگی در عصاره‌های حاصل از حلال‌های آلی آبی (اتانول- آب80% و متانول-آب 80%) نسبت به حلال اتانول و متانول خالص بیشتر بود و در عصاره‌های گیاهی با بالاترین سطح فنول، بالاترین قدرت احیاکنندگی وجود داشت که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. Nantitanon و همکاران (2010)، در پژوهشی بر روی عصاره برگ گیاه گاوا[10]، گزارش کردند که عصاره استخراج شده با روش اولتراسونیک عملکردی بهتری در استخراج ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به عصاره حاصل از روش ماسراسیون و سوکسله داشت که مشابه نتایج این مطالعه است. Odabasoglu و همکاران (2005)، در مطالعه‌ای بر روی گونه‌های گیاه لیچن[11]، نشان دادند که با افزایش مقدار ترکیبات فنولی در عصاره‌های آبی این گیاه در محدوده 9/2 تا 61/7 و عصاره‌های متانولی در محدوده 18/6 تا 75/1 میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم، میزان جذب این عصاره‌ها به ترتیب از0/131 تا 0/229 و 0/119 تا 0/542 افزایش یافت که این مقادیر کمتراز نتایج این مطالعه بوده است.

همبستگی بین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

رابطه میان مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌ها با توانایی آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در جدول 1 نشان داه شده است. ضریب همبستگی معکوسی بین محتوای فنول با IC50 آن‌ها در آزمون‌های ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد که نشان‌دهنده افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش میزان ترکیبات فنولی است. همچنین همبستگی مثبت و بالایی بین روش‌های سنجش فعالیت

1 Annatto
2 *Momordica charantia*
3 *Moringa oleifera*
4 *Eugenia jambolana*
5 *Acacia nilotica*
6 *Azadirachta indica*
7 *Terminalia arjuna*
8 *Ficus religiosa*
9 *Aloe barbadensisosa*
10 guava
11lichen

آنتی‌اکسیدانی بدست آمد.

شکل4- مقایسه میانگین قدرت احیاکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های حاصل از حلال‌ها و روش‌های مختلف استخراج.

حروف غیرمشابه در هر غلظت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 5% است.

جدول 1- نتایج آنالیز همبستگی بین آزمون‌های مختلف ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

نوع آزمون	فنول کل	IC50 مهار رادیکال DPPH	IC50 قدرت احیاکنندگی
فنول کل	1	- 0/975*	- 0/976*
IC50 مهار رادیکال DPPH	-	1	0/987*
IC50 قدرت احیاکنندگی	-	-	1

*: معنی‌دار بودن همبستگی در سطح احتمال 5% است.

بر اساس نتایج همبستگی در جدول 1 مشخص شد 97 درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکال‌های DPPH و قدرت احیاکنندگی مربوط به وجود ترکیبات فنولی می‌باشد. ارتباط ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط Ramli و همکاران (2014) نیز به اثبات رسیده است.Anokwuru و همکاران (2015)، در مطالعه‌ای بر روی سنجش ارتباط بین ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ترمینیلیا سرشیا برچ[12]، گزارش کردند که ارتباط منفی بین میزان فنول با IC50 مهار رادیکال‌های DPPH (r= −0/209) و قدرت احیاکنندگی (r= −0/477) و ارتباط مثبت (r= 0/477) میان آزمون‌های DPPH و قدرت احیاکنندگی وجود داشت که مشابه نتایج این پژوهش است. مقدار تاثیر ترکیبات فنولی در بازداری رادیکال آزاد و فعالیت احیاکنندگی توسط این محققان، 47 درصد گزارش شد که کمتر از نتایج این پژوهش بود. بدین ترتیب نتایج این بررسی نشان داد که میوه زغال اخته به واسطه داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فنولی دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی است

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که میوه زغال اخته حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی با قدرت آنتی‌اکسیدانی است که می‌تواند به‌عنوان منبع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. براساس نتایج حاصل از این تحقیق، مخلوط حلال قطبی و

12 Terminalia sericea burch

غیرقطبی تاثیر بهتری در استخراج ترکیبات فنولی نسبت به هر یک از حلال‌ها به تنهایی داشته است و استخراج با روش اولتراسوند علاوه بر کوتاه کردن زمان استخراج، در میزان استخراج ترکیبات فنولی و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های زغال اخته نسبت به روش غرقابی برتری داشته است و با افزایش میزان ترکیبات فنولی عصاره‌ها، خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها افزایش یافت.

منابع

دولت‌آبادی، م.، رفتنی‌امیری، ز. و اسماعیل‌زاده‌کناری، ر.، 1393، مقایسه فنل کل و خواص آنتی‌اکسیدانی پوست سبز گردوی سه منطقه از شمال ایران (شاهرود، بندرگز و هزارجریب)، فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، 45، 193-182.

Ansari, A.Q., Ahmed, S.A., Waheed, S.A., Sayyed Juned, A. 2013. Extraction and determination of antioxidant activity of *Withania somnifera Dunal*. *Journal of Experimental Biology*, 3(5), 502-50.

Anokwuru, C.P., Ramaite, I.D.I., Bessong, P. 2015. Phenolic content distribution and antioxidant activities of Terminalia sericea burch. *Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, 12(4), 21-27.

Charpe, T.W., Rathod, V.K. 2014. Effect of ethanol concentration in ultrasound assisted extraction of glycyrrhizic acid from *Licorice* root. *Journal of Chemical Engineering*, 11(4), 21-30.

Delfanian, M., Esmaeilzadeh Kenari, R., Sahari, M.A. 2015. Influence of extraction techniques on antioxidant properties and bioactive compounds of loquat fruit (*Eriobotrya japonica Lindl.*) skin and pulp extracts. *Journal of Food Science & Nutrition*, 3(3), 179-187.

Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S., Ju, Y.H. 2013. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and drug analysis*, 1-7.

Dolatabadi, M., Raftani Amiri, Z., Esmaeilzade Kenari, R. 2014. Comparison of total phenols and antioxidant properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk of three regions of northern Iran(Shahrood, Bandar Gaz and Hzargarib). *Journal of Food Science and Technology* , 11(45), 183-192.

Esmaeilzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F., Raftani Amiri, Z. 2014. Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. *Journal of Food Science & Nutrition*, 2(4), 426–435.

Farhoosh, R., Golmovahhed, G.A., Khodaparast, M.H.H. 2007. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). *Journal of Food chemistry*, 100, 231–236.

Galanakis, C.M., Goulas, V., Tsakona, S., Manganaris1, G.A., Gekas, V. 2013. A knowledge base for the recovery of natural phenols with different solvents. *Journal of Food Properties*, 16, 382–396.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E., Juraimi, A.S., Tayebi-Meigooni, A. 2015. Comparative evaluation of different extraction techniques and solvents for the assay of phytochemicals and antioxidant activity of Hashemi rice bran. *Journal of Molecules*, 20, 10822-10838.

Goli, A.H., Barzegar, M., Sahari, M.A. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compound of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Journal of Food chemistry*, 92, 521–525.

Hassanpour, H., Hamidoghli, Y., Hajilo, J., Adlipour, M. 2011. Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. *Journal of Scientia horticulturae*, 129, 459-463.

Karasakal, A. 2015. Determination of antioxidant activities, total phenolic, flavonoid, anthocyanin, β carotene and lycopene contents, essential and toxic elements in commercial cornelian cherry marmalades. *Journal of Chemistry and Environment*, 19 (5), 67–72.

Ling, L.T., Yap, S.A., Radhakrishnan, A.K., Subramaniam, T., Cheng, H.M., Palanisamy, U.D. 2009. Standardised Mangifera indica extract is an ideal antioxidant. *Journal of Food Chemistry*, 113, 1154–1159.

Nantitanon, W., Yotsawimonwat, S., Okonogi, S. 2010. Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. Journal of LWT - Food Science and Technology, 43, 1095-1103.

Narimani-Rad, M., Lotfi, A., Mesgari Abbasi, M., Abdollahi, B. 2013. The Effect of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) extract on serum ghrelinand cortico sterone levels in rat Model. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(12), 7-9.

Nazir, A., Wani, S.M., Gani, A., Masoodi, F.A., Haq, E., Mir, S.A., Riyaz, U. 2013. Nutritional, antioxidant and antiproliferative properties of persimmon (*Diospyros kaki*) -a minor fruit of J&K India. *Journal of Advanced Research*, 1(7), 545–554.

Odabasoglu, F., Aslan, A., Cakir, A., Suleyman, H., Karagoz, Y., Bayir, Y., Halici, M. 2005. Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of some lichen species. *Journal of Fitoterapia*, 76, 216–219.

Pawlowska, A.M., Camangi, F., Braca, A. 2010. Quali-quantitative analysis of flavonoids of Cornus mas L. (*Cornaceae*) fruits. *Journal of Food Chemistry*, 119, 1257–1261.

Ramazan, M, Pinar, I., Havser, E.V. 2011. Antioxidant activity and total phenolic content of *Gagea fibrosa* and *Romulea ramiflora*. *Iran. J. Chem. Chem. Eng*, 30(3), 57-62.

Ramli, N.S, Ismail, P., Rahmat, A. 2014. Influence of conventional and ultrasonic-assisted extraction on phenolic contents, betacyanin contents, and antioxidant capacity of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Journal of The Scientific World*, 1-7.

Rezaeizadeh, A., Zuki, A.B.Z., Abdollahi, M., Goh, Y.M., Noordin, M.M., Hamid, M., Azmi, T.I. 2011. Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extracts of *Momordica charantia*. *Journal of Biotechnology*, 10(24), 4932-4940.

Rouhani, S.H., Alizadeh, N., Salimi, S.H., Haji-Ghasemi, T. 2009. Ultrasonic assisted extraction of natural pigments from rhizomes of *curcuma longa* L. *Journal of Prog*. *Color Colorants* Coat, 2, 103–113.

Stankovic, M.S., Niciforovic, N., Topuzovic, M., Solujic, S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium Montanum* L. Var. *Montanum*, F. *Supinum* (L.) REICHENB. *Journal of Biotechnol. & Biotechnol*. Eq, 25(1), 2222-2227.

Stankovic, M.S., Zia-Ul-Haq, M., BojoviC, B.M., TopuzoviC, M.D. 2014. Total phenolics, flavonoid content and antioxidant power of leaf, flower and fruits from cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Journal of Agricultural Science*, 20 (2), 358-363.

Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M. 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidantactivity of selected medicinal plant extracts. *Journal of Molecules*, 14, 2167-2180.

Sun, C., Wu, Z., Wang,Z., Zhang, H. 2015. Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant pro perties of Beijing Propolis extracts. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1-10.

Sushma, R., Dharini, H., Sadiya, T., Krishna, M.T.P., Bhavya, S.G., Dammalli, M. 2014. Extraction of polyphenols from Decalepis hamiltonii Root: Optimization Of batch extraction process parameters. *Journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*, 5(4), 624–632.

Tural, S., Koca, I. 2008. Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Journal of Scientia Horticulturae*, 116, 362-9.

Yolmeh, M, Habibi-Najafi, M.B., Shakouri, S., Hosseini, F. 2015. Comparing antibacterial and antioxidant activity of annatto dye extracted by conventional and ultrasound-assisted methods. *Journal of Research in Medical Sciences*, 15, 29-33.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 517-527

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 527-517

The effect of different solvents and ultrasound on antioxidant properties of extract of *Cornus mas* L. fruit

F. Gillani[1], Z. Raftani Amiri[2*], R. Esmailzadeh Kenari[2]

Received: 2016.02.09
Accepted: 2016.07.10

Introduction: Cornelian cherry (*Cornus mas* L.), which belongs to the family Cornaceae, grows in Iran, in areas such as Qazvin and Arasbaran. The fruit possesses anti-inflammatory and antioxidant properties and it is used as an herbal remedy in medicine. Separation of natural antioxidant compounds from plant sources requires an appropriate method of extraction, which is effective factor to achieve the higher efficiency of these valuable compounds. In this study, the effect of extraction methods (immersion and ultrasound) and different solvents (ethanol 100%, ethanol – water (50:50 V/V) and water) on amount of phenolic compounds and antioxidant properties of cornelian cherry fruit extract were investigated.

Materials and Methods: Qazvin cornelian cherry was purchased from the local market of Amol city, Mazandaran province, Iran. All solvents and chemicals used in this study were of analytical reagent grade and were prepared from Merck (Darmstadt, Germany) and Sigma–Aldrich (St. Louis, MO). Cornelian cherry was washed, core separated, dried in front of the sun for 5 days and then powdered with kitchen miller. Powdered cornelian cherry fruit was extracted using immersion extraction techniques, ultrasound and different solvents (ethanol 100%, ethanol –water (50:50 V/V) and water). In the immersion method, powdered cornelian cherry fruit were mixed with each solvent in the ratio of 1:10, individually. Then, the mixtures were shaken overnight at room temperature. After 24 hrs, the extracts were filtered through Whatman No. 42 filter paper and the solvents were evaporated in an oven at 55°C. In the ultrasound technique, the mixture of powdered samples with any solvent (1:10) was sonicated in an ultrasonic bath for 45 min at 35°C. The extracts were then filtered and the solvents were evaporated using an oven at 55°C. Finally, the extracts obtained from extraction methods were kept in a freezer for furthere experiments. The total phenolic content of the extracts was determined with the Folin-ciocalteau method, briefly, 0.5 mL of cornelian cherry fruit extracts with concentration of 1mg/mL were mixed with 2.5 mL of Folin–Ciocalteu reagent (previously diluted 10-fold with distilled water) and 2 mL of 7.5% sodium carbonate solution, then the samples were kept for 30 min at room temperature in the dark and at the end the absorbance of the solutions was read at 760 nm. The ability of the extracts to scavenge 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) was determined. 0.3 mL of each extract with a different concentration (500-3000µg/mL) was mixed with 2.7 mL of methanolic solution of DPPH (6×10^{-5} mole/L), then the mixture was shaken vigorously and was placed in the dark for 60 min. Absorbance was recorded at 517 nm. The percentage of the DPPH radical scavenging was calculated according to the following equation:

$$\% \text{ inhibition of DPPH radical} = [(A_{DPPH} - A_S) / A_{DPPH}] \times 100$$

A_S and A_{DPPH} are the absorbance of the solution the absorbance of the DPPH solution, respectively. Reducing power of extracts on iron ion was measured. 1mL of each extract with a different concentration (500-3000µg/mL) was mixed with 2.5 ml of phosphate buffer (0.2 M, pH= 6.6) and 2.5 ml potassium ferricyanide [K3Fe(CN)6] (1%), then the mixture was incubated at 50˚ C for 30 min. After that, 2.5 ml of 10% trichloroacetic acid were added to the mixture, then, was centrifuged at 1000g for 10 min. Subsequently, 2.5 ml of the upper layer solution was mixed with 2.5 ml of distilled water and 0.5 ml of 0.1% $FeCl_3$. Finally, the absorbance values of the solutions were read at 700 nm.

Results and discussion: The result of this study showed that the type of solvent and extraction method has been effective on amount of phenolic compounds of extracts, and also concentration dependent of phenolic

1and 2. M. Sc. Student and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran
(*Corresponding Author Email: zramiri@gmail.com)

compounds with antioxidant activity was observed in all extracts. The highest amount of phenolic compounds with 142.72 mg/g (based on Galic acid) was observed in sample extract obtained from solvent of water- ethanol (50:50 V/V) employing ultrasound method. Also, this extract with the lowest IC50 value with the amount of 0.955 mg/ml in the DPPH free radical scavenging method and the highest absorption with the amount of 0.601 in the reducing power of Iron III test, the highest antioxidant performance is shown. A negative correlation was observed between the total phenolic content and the IC_{50} value in the methods of measuring the antioxidant activity (DPPH and reducing power), which revealed the higher total phenolic content will give the lower IC50, that means the higher antioxidant activity. The results of present research showed that cornelian cherry fruit is a natural source of phenolic compounds and have considerable antioxidant activity.

Key words: *Cornus mas* L. fruit, Immersion, Ultrasound, Solvent, Antioxidant properties.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 528-539

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 539-528

ارزیابی تاثیر زمان رسانیدن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و بافتی بستنی گیاهی بر پایه شیر سویا و شیر کنجد

سجاد قادری[1]- مصطفی مظاهری طهرانی*[2]- سید محمد علی رضوی[2]

تاریخ دریافت: 1395/02/17
تاریخ پذیرش: 1395/08/19

چکیده

هدف مهم از انجام این پژوهش بررسی اثر زمان رسانیدن بر تغییرات فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و بافتی بستنی بهینه شده گیاهی بر پایه شیر سویا و شیر کنجد در مقایسه با بستنی معمولی بود. بهینه‌سازی فرمولاسیون بستنی گیاهی با استفاده از پارامترهای بافتی به‌هم مرتبط، روش سطح پاسخ و طرح D-optimal انجام پذیرفت و بهترین نسبت شیر سویا به شیر کنجد (55 به 45 درصد) به‌دست آمد. سپس همه آزمون‌های مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف رسانیدن 0، 2، 4، 6، 8 و 24 ساعت اندازه‌گیری شدند. بررسی نتایج رئولوژیکی و بافتی نشان داد که فرآیند رسانیدن به‌طور معنی‌داری (P<0/05) بر روی این خصوصیات بویژه ویسکوزیته، ضریب قوام و سفتی بافت تأثیرگذار بود بطوریکه شیب این تغییرات در طی زمان رسانیدن برای مخلوط بستنی بهینه شده گیاهی بیشتر بود. همچنین با افزایش زمان رسانیدن اورران و مقاومت به ذوب هردو نمونه بستنی به‌طور معنی‌داری (P<0/05) بیشتر شد بطوریکه افزایش مقاومت به ذوب برخلاف اورران، در نمونه بستنی بهینه شده گیاهی بیشتر از نمونه بستنی معمولی بود. بطور کلی، بهترین زمان رسانیدن برای اعمال تغییرات کیفی مناسب در بستنی معمولی و بهینه شده گیاهی به ترتیب 6 و 8 ساعت بود. تفاوت در نوع و مقدار متفاوت پروتئین‌ها خصوصاً کازئین در فرمولاسیون، مهم‌ترین علت ایجاد تغییرات متفاوت هر دو نوع بستنی در طی فرآیند رسانیدن بوده است.

واژه‌های کلیدی: رسانیدن، بستنی گیاهی، سویا، کنجد

مقدمه

بستنی فراورده منجمدی است که از شیر و مشتقات آن تهیه می‌شود. یک فراورده غذایی مشهور که به دلیل دارا بودن سه فاز جامد (کریستال یخ و چربی)، مایع (محلول شکر) و گاز (حباب‌های هوا) می‌تواند به‌عنوان یکی از پیچیده‌ترین مواد غذایی مطرح باشد. فرایندهای لازم برای اکثر دسرهای لبنی منجمد شبیه هم می‌باشد. اختلاط اجزای غیرمنجمد، پاستوریزاسیون، هموژنیزاسیون، سرد کردن، رسانیدن در 4 درجه سانتی‌گراد، سپس انجماد آمیخته بستنی در دمای نزدیک به 5- درجه سانتی‌گراد در فریزر مکانیکی (بستنی‌ساز) و نهایتا سخت کردن در دمای 25- تا30- درجه سانتی‌گراد (Goff *et al.*, 2013).

رسانیدن بستنی در مراحل تولید بستنی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. پاستوریزاسیون و هموژنیزاسیون، شکل فیزیکی مواد جامد معلق موجود در آمیخته بستنی را تغییر می‌دهند که پاستوریزاسیون چربی را ذوب کرده و هموژنیزاسیون اندازه گلبول های چربی را کاهش می‌دهد و غشاهای جدید و متفاوتی برای گلبول‌های چربی تشکیل می‌شود. آمیخته پس از هموژنیزاسیون باید بلافاصله در مرحله رسانیدن در دمای صفر تا 5 درجه سانتی‌گراد سرد شود و سپس در مخازن نگهداری مجهز به سیستم سردکننده نگاه داشته شود. در مرحله رسانیدن بستنی قابلیت زده شدن مخلوط بستنی بهتر شده و بافت و پیکره محصول نهایی بهبود می‌یابد. در حین رسانیدن، زمان کافی برای کریستاله شدن چربی فراهم می‌آید و پروتئین شیر و قوام دهنده‌ها می‌توانند آب آزاد را به‌صورت هیدراته جذب کنند که برای این عمل به چندین ساعت زمان نیاز هست. در گذشته زمان رسانیدن را 24 ساعت در نظر می‌گرفتند که امروزه صنعت به این نتیجه رسیده است که بیش از 2 تا 4 ساعت زمان رسانیدن از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نیست (مرتضوی و همکاران، 1384).

یکی از فراورده‌های پروتئینی کنجد تولید عصاره شیر مانندی است که اصطلاحاً به آن شیر کنجد می‌گویند. این شیر از جنبه‌های مختلف مفید می‌باشد. قسمت اعظم چربی شیر کنجد از چربی غیراشباع تشکیل شده است. نکته حائز اهمیت فقدان قند لاکتوز در

1 و 2- دانشجوی دکتری و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
(* - نویسنده مسئول: Email: mmtehrani57@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.55743

شیر کنجد است، در نتیجه مشکل جذب لاکتوز که به عدم تحمل لاکتوز در محصولات لبنی معروف است رفع خواهد شد. از نکات بسیار جالب از شیر کنجد طعم کنجدی آن است که بر خلاف سایر طعم‌های گیاهی، خوش طعم بوده و از این لحاظ نسبت به شیر سویا برتری دارد (jihad *et al*., 2009).

شیر سویا معروف‌ترین شیر گیاهی مورد استفاده در تهیه بستنی است زیرا این محصول حاوی ایزوفلاونها، اولیگوساکاریدهای پریبیوتیک، اکثر اسیدهای آمینه ضروری، مواد معدنی و اکثر ویتامین‌های محلول در آب و چربی می‌باشند و این امر موجب گردیده سویا و فرآورده‌های آن جزء غذاهای فراسودمند دسته‌بندی گردد (Kwok *et al*., 2002).

محققان در پژوهشی بیان داشتند که پروتئین‌های کنجد می‌توانند به‌عنوان عاملی برای ایجاد کف، امولسیون و ژل در طیف وسیعی از مواد مورد استفاده قرار گیرند (Escamilla-Silva *et al*., 2003). مهدیان و همکاران (1390) اثر کاربرد آرد کامل سویا بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی را مورد بررسی قرار داد. در پژوهش آن‌ها افزایش درصد آرد سویا در ترکیب بستنی باعث کاهش وزن مخصوص نمونه‌ها و افزایش ویسکوزیته نمونه‌ها شد. اسدی‌نژاد و همکاران (1387) تأثیر نوع پایدارکننده و زمان رسانیدن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی نرم را بررسی نمودند. آن‌ها دریافتند که زمان رسانیدن بر برخی خصوصیات مانند pH و وزن مخصوص تأثیر معنی‌داری ندارد اما بر سایر خصوصیات فیزیکوشیمیایی مانند اورران، مقاومت به ذوب و پارامترهای بافتی تأثیر معنی‌داری می‌گذارد و همه این پارامترها را بهبود می‌دهد. درویسگلو همکاران (2005)، کنستانتره پروتئینی سویا را در سطوح مختلف جایگزین ماده جامد بدون چربی شیر نموده و مشاهده کردند که افزودن کنستانتره پروتئینی سویا باعث کاهش سفیدی و ضریب افزایش حجم و افزایش میزان مقاومت به ذوب نمونه‌ها گردید. هرالد و همکاران (2008) با استفاده از ایزوله پروتئینی سویا را به‌عنوان جایگزین تخم‌مرغ در بستنی وانیلی فرانسوی با نشاسته اصلاح‌شده ذرت و کنستانتره پروتئینی آب پنیر مورد مقایسه قرار دادند. طبق نتایج به‌دست آمده نمونه حاوی ایزوله پروتئینی سویا دارای سفتی بیشتر و پذیرش حسی پایین‌تری نسبت به سایر نمونه‌ها بود.

بخش اعظمی از افرادی که در جامعه زندگی می‌کنند تنها مواد گیاهی مصرف می‌کنند و در تأمین برخی محصولات جذاب و خوشمزه مانند بستنی و فرآورده‌های لبنی مشکل اساسی دارند، لذا تولید بستنی گیاهی بر پایه شیرهای گیاهی علاوه بر داشتن خصوصیات سلامتی بخش که فاقد چربی حیوانی است و کمک به افراد گیاه‌خوار، یک کالای جدید محسوب می‌شود که بازار مصرف خوبی را برای تولیدکنندگان مهیا خواهد ساخت که می‌توانند از این بازار برای منافع اقتصادی بهره‌مند شوند. از سوی دیگر مرحله رسانیدن علاوه بر داشتن نقش اساسی در ایجاد خصوصیات فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و بافتی بستنی، در ایجاد خصوصیات پذیرش هوا و اورران و در واقع بحث اقتصاد تولید بستنی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر زمان رسانیدن بر روی تغییرات فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و بافتی بستنی بهینه شده گیاهی بر پایه شیر سویا و شیر کنجد در مقایسه با بستنی معمولی است و بررسی این نکته که آیا پروتئین‌های گیاهی تأثیر مثبت یا منفی نسبت به کازئین در فرآیند رسانیدن اعمال می‌کنند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، آرد سویا (19 درصد چربی و 76/5 درصد ماده خشک بدون چربی) از شرکت توس سویان مشهد ایران، شیر استریلیزه و هموژنیزه (1/5 درصد چربی) از شرکت صنایع لبنی پگاه خراسان، خامه استریلیزه و هموژنیزه (30 درصد چربی) از شرکت صنایع لبنی پگاه خراسان، پایدارکننده تجاری پانیسول ex (دنیسکو، دانمارک)، شیر خشک بدون چربی از شرکت صنایع لبنی پگاه خراسان و شکر، وانیل و نمونه کنجد مرغوب پوست‌گیری شده از فروشگاه‌های معتبر خریداری گردیدند.

تهیه شیر سویا

آرد سویا تهیه شده به نسبت 1:5 در آب مقطر با دمای 85 درجه سانتی‌گراد (یک قسمت آرد سویا و پنج قسمت آب) مخلوط گردید و سپس به مدت 15 دقیقه در مخلوط‌کن با دور متوسط 700 دور در دقیقه مخلوط گردید. سپس مخلوط تهیه شده را به دمای 50-40 درجه سانتی‌گراد رسانده و با پارچه صافی دو لایه فیلتر گردید (ماده خشک انتهایی شیر کنحد بین 12 -11 تنظیم گردد). در انتها سرد شده در ظروف مناسب در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 ثانیه پاستوریزه شد و تا زمان مصرف در ظروف در بسته در یخچال با دمای 5-4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (یگانه‌زاد، 1386).

تهیه شیر کنجد

کنجد به نسبت 1:3 (یک قسمت کنجد و سه قسمت آب) با آب مقطر مخلوط شد و سپس به مدت 16 ساعت در دمای محیط گذاشته شد. سپس کنجد با آب شستشو داده شد و پس از مخلوط شدن با آب به نسبت 1:2 و در دمای 85 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه بلانچ شد. پس از آبکشی و شستشوی مجدد کنجد به نسبت 1:5 با آب مقطر مخلوط شده و به مدت 20 دقیقه در مخلوط‌کن با دور متوسط 700 دور در دقیقه مخلوط گردید. پس از نگهداری مخلوط به مدت 1 ساعت در دمای اتاق، با پارچه صافی دو لایه فیلتر گردید (بطوریکه ماده خشک انتهایی شیر کنجد بین 12-11 تنظیم گردد). در انتها شیر

در ظروف مناسب در دمای 80 درجه سانتی‌گراد بـه مـدت 15 ثانیـه پاستوریزه شد و تا زمان مصرف در ظروف در بسته در یخچال با دمای 5-4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Ahmadian *et al.*, 2014).

تهیه نسبت بهینه شیر سویا به شیر کنجد

برای بهینه‌سازی دقیق فرمولاسیون بستنی گیاهی بر پایـه شـیر سویا و شیر کنجد بر اساس سه پارامتر بافتی بـه‌هـم مـرتبط و روش سطح پاسخ و از طرح D-optimal استفاده گردید تا نسـبت بهینـه از شیرهای گیاهی برای تهیه بستنی با بهترین بافت به دست آید. برای این منظور از سه پارامتر سفتی، قوام و مدول ظاهری الاستیسیته کـه سنجشی برای سفتی بافت محسوب می‌شوند و بـا اسـتفاده از نمونـه شاهد تهیه شده از شیر گاو نسبت بهینه به‌دست آمـد. سـپس فرآینـد رسانیدن با توجه به اندازه‌گیـری و مقایسـه خصوصـیات رئولـوژیکی، بافتی و فیزیکوشیمیایی نمونه بستنی بهینه شده و نمونه شاهد در طی زمان‌های متفاوت رسانیدن مورد ارزیابی قرار گرفت.

تهیه بستنی

فرمولاسیون بستنی معمولی شامل 10 درصد چربـی، 15 درصـد شکر، 11 درصد ماده جامد بدون چربی شیر، 0/5 درصد پایدارکننـده، 0/1 درصد وانیل بود. یک معادله سه مجهولی بر اساس فرمول مذکور و همچنین مقدار ماده خشک و چربی هر کدام از شـیرهای گیـاهی و شیر معمولی و به طور جداگانه در نرم‌افزار اکسل 2010 طراحی گردید و بر اساس آن وزن همه ترکیبات مشخص گردید. پـس از بـه‌دسـت آوردن نسبت بهینه بر اساس طراحی آزمایش توسط نرم‌افزار، نسـبت شیر سویا به شیر کنجد تهیه شده و پس از تـوزین اجـزاء دیگـر لازم برای فرمولاسیون‌های متفاوت بستنی میکس ابتدا مواد مـایع شـامل هر کدام از شیرهای گیاهی، شـیر گـاو و خامـه ضـمن حـرارت دادن ملایم تا حداکثر دمای 50-45 درجه سانتی‌گراد مرتباً هم زده شـدند. پس از آن، مخلوط مواد جامد شامل شکر، شیر خشک بـدون چربـی، امولسیفایر و وانیل به مایع حرارت دیده اضافه و پس از حل شدن بـه وسیله همـزن (Sunny, Model SM-65, Germany) بـه مـدت 3 دقیقه کاملاً مخلـوط شـده و در دمـای C °80 بـه مـدت 25 ثانیـه پاسـتوریزه و توسـط هموژنـایزر (Ultra Turrax T25D IKA, Germany) به مدت 3 دقیقه در دور 15000 هموژن گردیـد. سـپس بلافاصله به کمک حمام آب، یخ و نمک تا دمای C °5 سرد شد. پس از آن، مرحله رسانیدن در زمان هـای 0، 2، 4، 6، 8 و 24 سـاعت در یخچال (دمای C °5 ±0/5) انجام شد. مخلوط بستنی همه نمونه‌های تهیه شده، پس از طی مرحله رسانیدن به مدت 20 دقیقه در دسـتگاه بسـتنی‌سـاز غیرمـداوم (ICK 5000, Delonghi, Germany) قـرار گرفتند. در پایان، نمونه‌هـا در ظـروف پلاسـتیکی درب دار ریختـه و کدگذاری شدند و حداقل به مدت 24 ساعت در فریزر C °18- قـرار گرفتند. ضمناً نمونه بستنی معمولی از شیر گاو با مواد و روش یکسان و در طی زمان‌های رسانیدن 0، 2، 4، 6، 8 و 24 سـاعت بـه‌عنـوان نمونه شـاهد تولیـد گردیـد (Bahramparvar *et al.*, 2011). همـه متغیرها در نمودارها با عناوین موجود در جدول 1 تعریف گردید.

جدول 1- تعریف متغیرهای بکار رفته در نمودارهای رئولوژیکی و بافی

نام نمونه	تعریف
Control	**نمونه بستنی شاهد**
Control 0	**نمونه بستنی شاهد بدون از طی زمان رسانیدن**
Control 4	**نمونه بستنی شاهد با 4 ساعت زمان رسانیدن**
Control 8	**نمونه بستنی شاهد با 8 ساعت زمان رسانیدن**
Optimized	**نمونه بستنی بهینه شده گیاهی**
Optimized 0	**نمونه بستنی بهینه شده گیاهی بدون از طی زمان رسانیدن**
Optimize 4	**نمونه بستنی بهینه شده گیاهی با 4 ساعت زمان رسانیدن**
Optimize 8	**نمونه بستنی بهینه شده گیاهی با 8 ساعت زمان رسانیدن**

آزمون‌های مربوط به مخلوط و بستنی

اندازه‌گیری مقدار پروتئین

اندازه‌گیری پروتئین نمونه‌هـای بسـتنی بـه روش کلـدال انجـام پذیرفت (استاندارد ملی شماره 639).

آزمون رئولوژیکی

ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های مخلوط بستنی، پس از طی زمـان رسانیدن آن‌ها با استفاده از ویسـکومتر چرخشـی بـوهلین (Bohlin Model Visco 88, Bohlin instruments, UK) مجهـز بـه سـیرکولاتور حرارتـی (Julabo, Model F12-MC, Julabo

(Labortechnik, Germany) در دمای 5±0/5°C و درجه برش 51/8 1/s تعیین گردید. رفتار جریان نمونه‌ها با مدل قانون توان مقایسه شدند. رابطه این معادله در زیر آورده شده است (Akalin *et al.*, 2008).

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

آزمون بافتی

از دستگاه آنالیز بافت (Texture Analyzer Brookfield CT3-10kg ,US) برای ارزیابی بافت نمونه‌های 50 گرمی تهیه شده از همه بستنی‌ها استفاده گردید. بدین منظور از پروبی به قطر 6 mm برای نفوذ به عمق 15 mm نمونه‌ها با سرعت 2 mm/s استفاده شد. بیش‌ترین نیروی فشاری طی نفوذ به‌عنوان سفتی[1] تعریف شد. سطح بیش‌ترین نیروی منفی طی برگشت پروب به‌عنوان چسبندگی[2] در نظر گرفته شد، همچنین مدول ظاهری الاستیسیته[3] به‌عنوان بخشی از منحنی که شاخص جزء الاستیک ماده است و قوام[4] به‌صورت سطح زیر منحنی تا رسیدن به تغییر شکل هدف تعریف گردید (Akalin *et al.*, 2008).

مقاومت به ذوب

برای این منظور مقدار 30 گرم از نمونه بستنی بعد از سخت شدن در یک قیف بوخنر ریخته و روی دهانه یک ارلن مایر 500 میلی‌لیتری قرار داده شد. ارلن و نمونه را به مدت 15 دقیقه در دمای 25 درجه سانتی‌گراد قرار داده و بعد از این مدت وزن بستنی ذوب شده اندازه‌گیری شده و درصد مقاومت به ذوب از رابطه زیر محاسبه گردید (مهدیان و همکاران، 1390).

(2) 100× (وزن نمونه بستنی /(وزن نمونه بستنی - وزن نمونه ذوب شده))= درصد مقاومت به ذوب

اوررن

ضریب افزایش حجم بستنی از طریق توزین حجم مشخصی از بستنی قبل و بعد از مرحله انجماد و محاسبه درصد اختلاف آن‌ها بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Bahramparvar *et al.*, 2008).

() 100× (وزن همان حجم از بستنی/(وزن حجم معینی از مخلوط بستنی - وزن همان حجم از بستنی))= ضریب افزایش حجم

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای بهینه‌سازی فرمولاسیون بستنی گیاهی بر پایه شیر سویا و کنجد از نرم‌افزار Design Expert، روش سطح پاسخ و از طرح D-optimal استفاده شده و بهترین نسبت بهینه شیر سویا به شیر کنجد انتخاب گردید. تیمار مورد مطالعه در این آزمون زمان رسانیدن با سطوح 0، 2، 4، 6، 8 و 24 ساعت بود. داده‌های بدست آمده این مطالعه بر پایه طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار SPSS20 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح آماری 95 درصد ($P<0/05$) استفاده شد و منحنی‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ترسیم شدند.

بحث و نتایج

بهینه‌سازی فرمولاسیون

بهینه‌سازی فرمولاسیون بر اساس سه پارامتر به هم وابسته بافتی شامل سفتی، قوام و مدول الاستیسیته انجام گرفت. پنج سطح نرم‌افزار تعریف گردید و بر اساس آن پارامترهای خروجی برای نرم‌افزار تعریف گردید و با توجه به نتایج به‌دست آمده از نمونه شاهد و بر اساس نمونه‌های فیکس شده توسط مدل با ضریب مطلوبیت بالا بهترین نسبت شیر سویا (55 درصد) به شیر کنجد (45 درصد) برای تهیه بستنی گیاهی با بهترین خصوصیات بافتی به‌دست آمد (شکل 1). برای اعتبارسنجی فرمول بهینه پیشنهاد شده توسط نرم‌افزار، آزمایش با دو تکرار انجام شد که در آن از نسبت بهینه شیرها برای تهیه بستنی استفاده گردید و مقدار پاسخ‌ها اندازه‌گیری شده با نتایج پیش‌بینی شده مقایسه گردید. همان‌طور که در جدول شماره 2 مشخص است نتایج بسیار به همدیگر نزدیک بود که نشان دهنده اعتبار مدل و مقادیر به‌دست آمده برای نسبت دو شیر گیاهی بود.

مقدار پروتئین بستنی بهینه شده گیاهی و بستنی معمولی

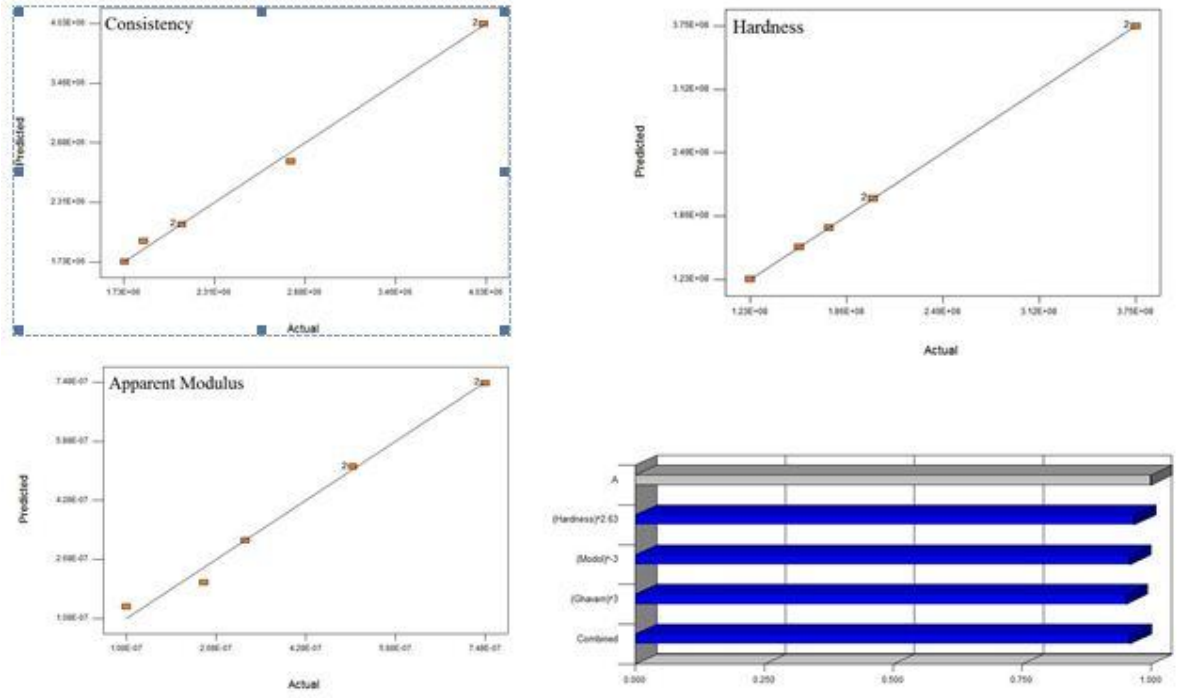
پس از رسیدن به نسبت بهینه مقدار پروتئین بستنی تهیه شده با فرمول بهینه گیاهی و بستنی معمولی محاسبه گردید. مقدار پروتئین بستنی بهینه شده گیاهی 3/07 گرم در 100 گرم نمونه بود که از این مقدار حدود 1/1 آن پروتئین شیر گاو و بقیه پروتئین گیاهی بود. برای بستنی معمولی 2/73 گرم در 100 گرم نمونه بود که همه آن پروتئین شیر گاو محسوب گردید.

بررسی تأثیر زمان رسانیدن بر تغییرات رئولوژیکی مخلوط بستنی بهینه شده گیاهی و بستنی معمولی

بررسی نتایج مربوط به تغییرات رئولوژیکی در زمان‌های مختلف در نمودارهای 2 نشان داده شده است. همانطور که مشخص است مدل توان کارایی بسیار زیادی ($R^2\geq0/99$) در توصیف رفتار رئولوژیکی همه نمونه‌های مخلوط بستنی بهینه‌شده و معمولی داشت. ویسکوزیته ظاهری همه نمونه‌ها با افزایش درجه برشی کاهش یافت

1 Hardness
2 Adhesiveness
3 Apparent modulus of elasticity
4 Consistency

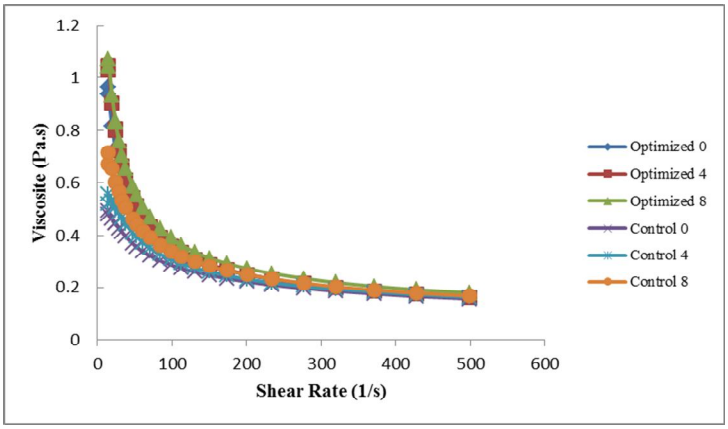
(شکل 2). از سوی دیگر نتایج نشان داد که همه نمونه‌های مورد بررسی در طی همه زمان‌های رسانیدن رفتار سودوپلاستیک یا شل شونده با افزایش درجه برشی داشتند.



شکل 1- بهینه‌سازی نسبت شیر سویا به شیر کنجد با استفاده از پارامترهای سفتی، قوام و مدول ظاهری الاستیسیته

جدول 2- مقایسه مقادیر میانگین پارامترهای بافتی بدست آمده آزمایشگاهی با مقادیر نرم‌افزاری نسبت بهینه

پارامتر/نوع بستنی	بستنی بهینه (نرم افزار)	بستنی بهینه (محاسبه تجربی)
سفتی بافت	1217/91	1209
قوام	122/6	111/7
مدول ظاهری	196/39	195/426

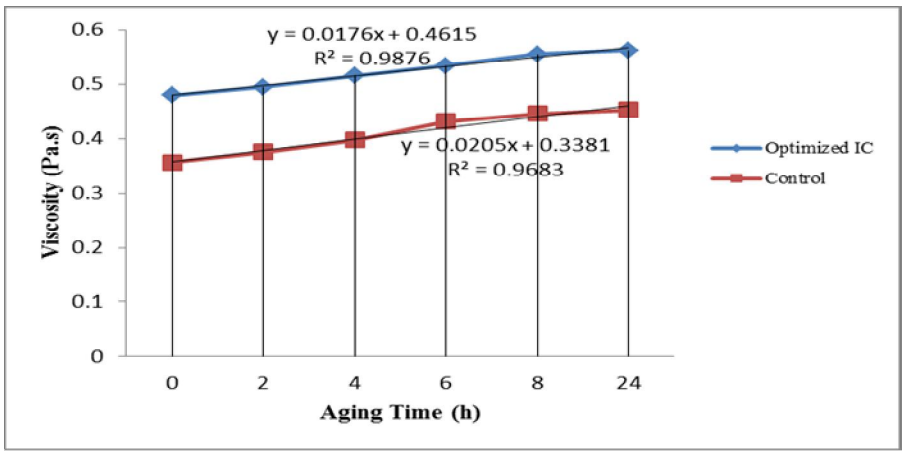


شکل 2- تاثیر زمان رسانیدن بر روند تغییرات ویسکوزیته ظاهری مخلوط بستنی گیاهی و معمولی در برابر درجه برشی

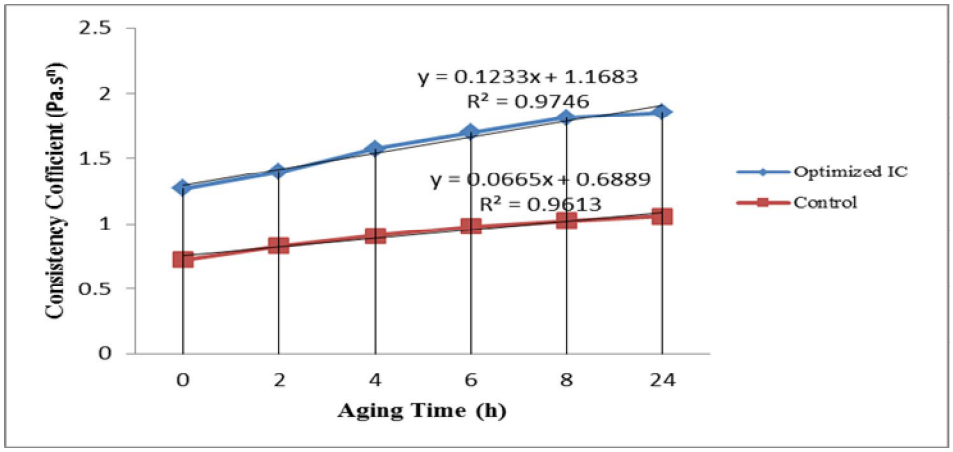
نتایج نشان داد که ویسکوزیته و ضریب قوام هر دو مخلوط بهینه شده گیاهی و بستنی معمولی با افزایش زمان رسانیدن افزایش می‌یابد و شیب این افزایش در مورد ویسکوزیته تقریباً برای هر دو نمونه مورد بررسی یکسان بود (شکل 3). هرچه به انتهای زمان رسانیدن مورد بررسی نزدیک شدیم شاهد تغییرات کمتری در مورد ویسکوزیته بودیم بطوریکه از زمان صفر تا 8 ساعت ویسکوزیته نمونه مخلوط بستنی معمولی 0/88 و از زمان 8 تا 24 ساعت تنها 0/07 پاسکال در ثانیه تغییرات داشت. در مورد مخلوط بستنی بهینه شده نیز تغییرات از زمان 0 تا 8 ساعت 0/76 و از زمان 8 تا 24 ساعت تنها 0/07 پاسکال در ثانیه بود که می‌توان به صراحت بیان داشت تا زمان 8 ساعت ویسکوزیته مخلوط به اندازه کافی افزایش داشته و زمان‌های بعدی از نظر اقتصادی به هیچ عنوان مقرون به صرفه نمی‌باشند. بررسی ضریب قوام نمونه‌ها نیز نشان داد که تغییرات ضریب قوام مانند ویسکوزیته است با این تفاوت که شیب این تغییرات افزایشی برای مخلوط بستنی بهینه‌شده گیاهی بیشتر بود (شکل 4). ویسکوزیته و ضریب قوام مخلوط گیاهی بهینه‌شده از ابتدا تا انتهای مرحله رسانیدن از موارد مشابه نمونه مخلوط بستنی معمولی بیشتر بودند که می‌توان بیان داشت که دلیل اصلی بیشتر بودن ویسکوزیته و ضریب قوام مربوط به حضور پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای شیر سویا در آمیخته بستنی می‌باشد چرا که حضور این ترکیبات که دارای وزن مولکولی بالا هستند از طریق پیوند با آب و تشکیل شبکه ژلی، می‌تواند افزایش ویسکوزیته و ضریب قوام را توجیه کند و اهمیت این موضوع این است که ویسکوزیته یک عامل تأثیرگذار روی ضریب افزایش حجم، سرعت خامه‌ای شدن، نرخ انتقال جرم و حرارت و شرایط جریان شیر و فراورده‌های لبنی معرفی شده است (Bahramparvar *et al.*, 2008).

مهدیان و همکاران (1390) اثر افزودن آرد سویا به بستنی ماستی را بررسی کردند که نتایج آن‌ها نشان داد که با افزودن آرد سویا و با توجه به میزان بالای پروتئین‌های سویا و قابلیت جذب بالای پروتئین‌های آن و همچنین با افزایش محتوای مواد عملکردی ضریب قوام نمونه بستنی افزایش می‌یابد. همچنین ضریب قوام تابعی از طبیعت ویسکوز مواد غذایی است. در ضمن نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که نمونه‌های مخلوط بستنی حاوی سویا همگی سودوپلاستیک بودند که با نتایج این پژوهش کاملاً همخوانی داشت. پژوهشگران گزارش کردند که جایگزینی ماده خشک بدون چربی با کنستانتره‌های پروتئینی سویا در ترکیب بستنی، ویسکوزیته نمونه‌ها را به‌طور مشخصی افزایش می‌دهد (Dervisoglu *et al.*, 2005; Herald *et al.*, 2008).

طی رسانیدن بستنی دو عمل مهم صورت می‌گیرد، اول اینکه امولسیفایرها جذب سطح گویچه‌های چربی شده و جای پروتئین‌های شیر را می‌گیرند که این عمل به کمک سرد شدن مخلوط انجام می‌گیرد، چراکه مونو و دی گلیسریدها متبلور شده و متعاقب با آن آبگریزتر شده و با قدرت بیشتری جذب گویچه‌های چربی می‌گردد. دومین فرآیند در طی رسانیدن، تبلور چربی در داخل قطرات است (جنگی و همکاران، 1385) به عبارت دیگر نگهداری در دمای پایین در طی چندین ساعت باعث شروع کریستالیزاسیون چربی، جذب پروتئین‌ها و امولسیفایرها به سطح گلبول های چربی و آبگیری پروتئین‌ها و پایدارکننده‌ها می‌گردد که نتیجه همه این موارد افزایش ویسکوزیته و افزایش ضریب قوام مخلوط بستنی می‌باشد (Goff, 1997).

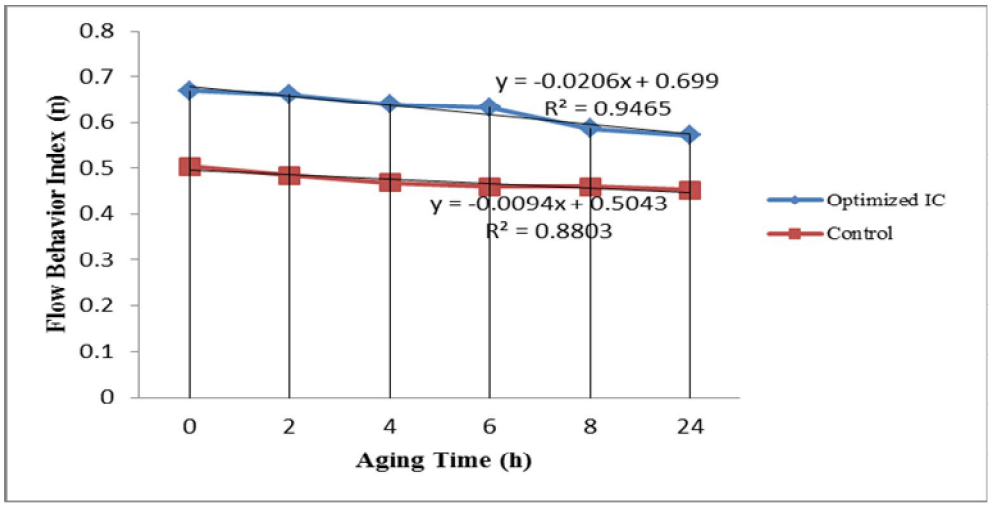


شکل 3- تاثیر زمان رسانیدن بر روند تغییرات ویسکوزیته ظاهری مخلوط بستنی گیاهی بهینه و معمولی



شکل 4- تاثیر زمان رسانیدن بر روند تغییرات ضریب قوام مخلوط بستنی گیاهی بهینه و معمولی

نتایج مربوط به بررسی اندیس جریان برای مخلوط نمونه‌های بهینه شده گیاهی و مخلوط بستنی معمولی در شکل 5 آورده شده است. در همه زمان‌های رسانیدن مورد بررسی اندیس جریان برای هر دو نمونه کاهش یافت که مانند ضریب قوام شیب تغییرات برای نمونه گیاهی بیشتر بود، بطوریکه اندیس جریان برای نمونه مخلوط بستنی معمولی از زمان 6 ساعت تقریباً بدون تغییر ماند اما این شاخص برای نمونه مخلوط بستنی گیاهی تا زمان 8 ساعت در تغییر بود و پس از آن مقدار تغییرات تا زمان 24 ساعت با شیب بسیار اندکی ادامه داشت. مقادیر کمتر از یک اندیس رفتار جریان (n) برای همه نمونه‌ها گویای این است که همه نمونه‌ها رفتار سودوپلاستیک (شل شونده با برش) دارند. هرچه اندیس جریان کمتر باشد نشان‌دهنده رفتار سودوپلاستیک بیشتر آن مخلوط است که نمونه‌هایی با اندیس جریان کمتر و گرانروی بالاتر، خاصیت خوشایند دهانی بیشتری دارند (Dail *et al.*, 1990). در پژوهشی شاخص رفتار جریان آمیخته بستنی را در حدود 0/7 ذکر کردند (Goff *et al.*, 1994) و در تحقیقی دیگر شاخص رفتار جریان آمیخته بستنی همراه با فیبر را بین 0/45 تا 0/81 عنوان کردند که با نتایج این پژوهش کاملاً همخوانی دارد (Soukoulis *et al.*, 2009).



شکل 5- تاثیر زمان رسانیدن بر روند تغییرات اندیس جریان مخلوط بستنی گیاهی بهینه و معمولی

به‌نظر می‌رسد پارامترهای رئولوژیکی شامل ویسکوزیته، ضریب قوام و اندیس جریان هر دو نمونه بستنی گیاهی و بستنی معمولی با افزایش زمان رسانیدن دچار تغییرات مثبتی می‌شوند بطوریکه افزایش زمان رسانیدن به ثبات نسبی مطلوب برای متغیرهای ویسکوزیته و ضریب قوام بستنی معمولی نسبت به بستنی بهینه شده گیاهی کمتر می‌باشد.

بررسی تأثیر زمان رسانیدن بر تغییرات بافتی بستنی بهینه شده گیاهی و بستنی معمولی

مقاومت بستنی به تغییر شکل زمانی که یک نیروی خارجی وارد می‌شود را سفتی می‌گویند که یک ویژگی بسیار مهم می‌باشد که تحت تأثیر تعدادی از فاکتورها از جمله نقطه انجماد اولیه (میزان قند)، مواد جامد، ضریب افزایش حجم و میزان و نوع پایدارکننده‌ها و ویسکوزیته قرار می‌گیرد (Muse *et al.*, 2004). نتیجه بررسی پارامترهای به‌دست آمده از آزمون نفوذ همه نمونه‌های بستنی تولید شده در جدول 3 آمده است. سفتی بافت، چسبندگی و قوام نمونه‌ها به‌عنوان شاخص‌های بافتی مورد ارزیابی قرار گرفتند. سفتی بافت هر دو نمونه با افزایش زمان رسانیدن کاهش یافت که این روند کاهش سفتی در نمونه بستنی گیاهی بهینه شده نسبت به نمونه بستنی معمولی‌ها به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) بیشتر بود. سفتی بافت نمونه بستنی بهینه شده گیاهی در زمان صفر بسیار بالا و حدود 10576 گرم بود که نسبت به نمونه بستنی معمولی بسیار بالاتر بود و این مطلب مستلزم این است که بستنی بهینه شده گیاهی باید مرحله رسانیدن را طی کند. روند معنی‌داری تغییرات در نمونه بستنی گیاهی بسیار بیشتر از نمونه بستنی معمولی بود که این روند تا زمان 24 ساعت ادامه داشت اما شدت تغییرات سفتی بافت در نمونه بستنی معمولی بسیار کندتر بود بطوریکه به‌نظر می‌رسد تا زمان 6 ساعت رسانیدن بستنی توانسته بافت بسیار مناسبی پیدا کند. از سوی دیگر بررسی قوام بافت نمونه‌های بستنی نیز نشان از روند کاهشی و معنی‌دار این پارامتر مانند سفتی نمونه‌ها داشت که این روند کاهشی با افزایش زمان رسانیدن برای نمونه بستنی بهینه شده گیاهی معنی‌دارتر ($P<0/05$) بود. در مجموع سفتی بافت و قوام بستنی گیاهی بهینه شده نسبت به نمونه بستنی معمولی به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) بیشتر بود. به نظر می‌رسد بستنی معمولی در طی 6 ساعت و بستنی بهینه شده گیاهی در بین زمان 8 تا 24 ساعت توانسته به قوام مطلوب دست پیدا کند. احتمالاً تغییر نوع و مقدار پروتئین و چربی در شیر گیاهی و شیر گاو با تاثیر بر خصوصیات عملکردی، اندازه و توزیع حباب‌های هوا و تشکیل کریستالهای بستنی بر سفتی بافت و قوام بستنی موثر بوده است. سفتی ممکن است به عنوان بازتابی از اجزای تشکیل‌دهنده آمیخته (چربی، پروتئین، قند و هیدروکلوئیدها) و شرایط فرآیند (هموژنیزاسیون، رسانیدن و انجماد) محصول نهایی منجمد باشد (Soukoulis *et al.*, 2009; Varela *et al.*, 2014). با کاهش دمای فرایند رسانیدن قابلیت زده شدن آمیخته بیشتر شده، زمان مورد نظر برای آبگیری پروتئین و پایدارکننده فراهم شده و ویسکوزیته به‌طور جزئی افزایش می‌یابد ، در نتیجه این موارد زمان مورد نظر برای نو آرایی غشاء و برهمکنش پروتئین-امولسیفایر را فراهم کرده و با توزیع مناسب گلبول های هوا در ساختار بستنی در مراحل بعدی بافت بستنی بهبود می‌یابد (Goff *et al.*, 2013).

جدول 3- تاثیر زمان رسانیدن بر روند تغییرات خصوصیات بافتی بستنی گیاهی بهینه و معمولی

زمان رسانیدن	سفتی بافت (g)		ضریب قوام (mJ)		چسبندگی (g)	
	معمولی	بهینه شده	معمولی	بهینه شده	معمولی	بهینه شده
0	3450±12/2[a]	10576±32[a]	309/8±2/51[a]	1139/3±2/38[a]	9/1±0/22[c]	17/9±0/71[a]
2	2166±9/3[b]	8751±23[b]	184/3±2/62[b]	859/8±1/81[b]	8/8±0/19[a]	15/9±0/67[b]
4	1675±6/25[c]	8397±22[c]	160/6±1/29[bc]	853/6±1/07[b]	7/6±0/19[b]	14/2±0/62[c]
6	1386±5/23[cd]	5624±17[d]	119/3±2/13[c]	450/9±1/31[c]	7/3±0/21[b]	12/4±0/53[d]
8	1125±4/16[cd]	2417±10[e]	72/5±1/62[d]	208/7±2/11[d]	7/2±0/18[b]	8/1±0/68[e]
24	845±3/29[d]	1230±7[f]	71/5±1/07[d]	111/7±1/34[e]	6/9±0/17[bc]	5/3±0/42[f]

*حروف یکسان در هر ردیف نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار ($P>0/05$)است و حروف غیر یکسان در هر ردیف نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$)است.

چسبندگی به اثر ترکیبی نیروهای چسبندگی و پیوستگی و عوامل دیگری مثل ویسکوزیته و ویسکوالاستیسیته بستگی دارد (Adhikari *et al.*, 2001). در مقایسه زمان‌های ابتدایی رسانیدن، چسبندگی نمونه بستنی گیاهی بهینه شده به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) بیشتر از نمونه بستنی معمولی بود. به‌طورکلی نتایج بررسی این پارامتر نشان داد که (جدول 3) چسبندگی همه نمونه‌ها مورد بررسی با افزایش زمان رسانیدن کاهش پیدا کرد که روند تغییرات و کاهش چسبندگی در نمونه بستنی بهینه شده گیاهی نسبت به نمونه بستنی معمولی بسیار معنی‌دارتر ($P<0/05$) بود. به‌طور تقریبی مقدار شاخص چسبندگی در زمان 4 ساعت برای نمونه بستنی معمولی ثابت گردید و برای بستنی بهینه شده گیاهی تا زمان 24 ساعت روند کاهشی داشت. به‌نظر می‌رسد این زمان‌ها برای اتمام فرایند رسانیدن و بهبود این پارامتر کاملاً مناسب باشند.

بررسی تأثیر زمان رسانیدن بـر تغییـرات فیزیکـی (اورران و مقاومت به ذوب) بستنی بهینه شده گیاهی و بستنی معمولی

همان‌طور که در جدول 4 آورده شده است زمان رسانیدن به‌طـور معنی‌داری (P<0/05) بر اورران نمونه‌های بستنی بهینه‌شده و معمولی مورد بررسی تأثیرگذار بوده است. با افزایش زمان رسـانیدن اورران در نمونه‌های بستنی به‌طـور معنـی‌داری (P<0/05) بیشـتر شـده اسـت بطوریکه شدت این تغییرات در نمونه بستنی گیاهی بهینه شده بیشتر از نمونه بستنی معمولی بود. در نمونه بستنی معمولی درصد اورران بعد از حدود 6 ساعت به مقدار مطلوبی می‌رسد کـه مقـدار مشـابه بـرای بستنی بهینه شده گیاهی حدود 8 ساعت بوده است. همـان‌طـور کـه کاملاً مشخص است (جدول 4) از زمان 8 ساعت تا 24 ساعت بـرای هر دو نمونه خصوصاً نمونه بستنی گیاهی تغییرات خاصـی در اورران صورت نگرفت. با توجه به ثابت بودن نـوع و مقـدار همـه ترکیبـات تأثیرگذار بر روی اورران شامل پایدارکننده‌ها، مقـدار مـاده خشـک و چربی و همچنین روش تولید یکسان نمونه‌های بستنی، به‌نظر می‌رسد تغییر نوع و مقدار پروتئین‌های مورد استفاده خصوصاً کازئین در شـیر گاو برای استفاده در بستنی بر افزایش اورران در نمونه‌هـای مختلـف تأثیرگذار بوده‌اند و در برخی موارد در نمونه‌های گیاهی توانسته‌اند در ایجاد اورانی معادل بستنی معمولی نقش بسزایی داشته باشند. بستنی بهینه شده با شیرهای گیاهی اورران بسـیار مطلـوبی در حـد بسـتنی معمولی داشت که با توجه به درصد و نوع پروتئین بالای آن خصوصاً وجود پروتئین‌های سویا و نقش بدون انکار آن‌ها در پایدارسازی گلبول های هوا می‌توان این نتایج را توجیه کرد. عامری و همکاران (1390) بیان داشتند که پروتئین‌های سویا توانایی تشکیل کف بسـیار خـوبی داشته و قادر هستند نقش مؤثری در محصولات غذایی حجیم داشـته باشند. از سوی دیگر در طی فرایند رسانیدن مخلوط بستنی، پروتئین‌ها و پایدارکننده‌های موجود در فرمولاسـیون بسـتنی آبگیـری کـرده و موجب افزایش ویسکوزیته می‌شـوند و فضـا را بـرای حفـظ و توزیـع مناسب سلول‌های هوا فراهم می‌آورند کـه در نتیجـه اورران افـزایش می‌یابد. در اندازه‌گیری درصد اورران نمونه‌های بستنی باید بیان داشت با توجه به استفاده از دستگاه بستنی‌سـاز آزمایشـگاهی مقـدار اورران مطلوب را می‌توان بین 30-28 درصد بیان داشت. مهدیان و همکاران (1390) اثر کاربرد آرد کامل سویا بر خصوصیات بستنی را مورد بررسی قراردادند که نتایج پژوهش نشان‌دهنده آن بود کـه افـزایش درصـد جایگزینی ماده جامد بدون چربی با آرد سویا در سطح بالاتر از 45 درصد، باعث بهبود میزان افزایش حجم نمونه‌ها گردید به‌طوری که این میزان بـرای نمونـه 65 درصـد آرد سـویا بـالاترین (28 درصـد) بـود. در پژوهش‌های مختلف مقادیر پایین برای ضریب افزایش حجم بسـتنی معمولی به‌دست آوردند و آن را به کـارا نبـودن دسـتگاه بسـتنی‌سـاز مرتبط کردند که بـا نتـایج ایـن پـژوهش همخـوانی کـاملی داشـت (Bahramparvar *et al.*, 2011; Bahramparvar *et al.*, 2012).

جدول 4- تاثیر زمان رسانیدن بر روند تغییرات خصوصیات فیزیکی بستنی گیاهی بهینه و معمولی

زمان رسانیدن	اورران		مقاومت به ذوب	
	معمولی	بهینه شده	معمولی	بهینه شده
0	14/69±0/22[a]	16/12±0/42[a]	37/75±0/47[a]	35/14±0/52[a]
2	22/67±0/31[b]	18/16±0/52[b]	48/82±0/64[b]	48/17±0/73[b]
4	26/41±0/49[c]	22/17±0/61[c]	59/28±0/76[c]	57/18±0/94[c]
6	29/48±0/45[d]	25/36±0/68[d]	68/9±0/52[d]	65/35±0/90[d]
8	30/27±0/59[d]	27/86±0/61[e]	76/78±0/96[e]	72/65±1/3[e]
24	30/5±0/46[d]	28/64±0/48[e]	79/67±0/95[ef]	83/39±1/1[f]

*حروف یکسان در هر ردیف نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار (P>0/05)است و حروف غیریکسان در هر ردیف نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P<0/05)است.

کیفیت ذوب مناسب، به خصوص در بستنی‌های چـوبی و قیفـی اهمیت بالایی دارد. به دلیل اینکه اگر بستنی خیلی سریع ذوب شـود، قابلیت خوردن مناسب را از دست می‌دهد. به علاوه، چنین محصولی به راحتی در معرض شوک حرارتی قرار مـی‌گیـرد. در مقابـل شـوک، ذوب خیلـی آهسـته نیـز در بسـتنی یـک نقـص بـه شـمار مـی‌رود (Bahramparvar *et al.*, 2011). نتـایج ایـن پـژوهش نشـان داد (جدول 4) که در مجموع درصد مقاومت به ذوب نمونه بستنی گیاهی بهینه شده و نمونه بستنی معمولی بسیار به همدیگر نزدیک بوده و با افزایش زمان رسانیدن درصد مقاومت به ذوب نمونه‌ها به‌طور کـاملاً معنی‌داری (P<0/05) افزایش یافت، اما این افزایش در نمونه بستنی بهینه‌شده گیاهی بیشتر از نمونه بستنی معمولی بود. همـان‌طـور کـه مشاهده می‌گردد (جدول 4) این روند افزایشـی مقاومـت بـه ذوب در طی فرایند رسانیدن از زمان 8 ساعت به بعد بسیار کند شده و تقریبـاً برای هر دو نمونه یکنواخت بوده است که شیب ایـن افـزایش بـرای نمونه گیاهی بیشتر بود. پروتئین‌های سویا و نقش عملکـردی آن‌هـا خصوصاً جذب آب بالای آن‌ها در این زمینه نقـش بسـزایی دارد. بـا

توجه به بیشتر بودن درصد پروتئین موجود در ماده خشک بستنی گیاهی بهینه شده می‌توان بیان داشت که گروه‌های عاملی هیدروفیل آن، آب آزاد بیشتری را به صورت آب هیدراسیون درآورده و با کاهش آب آزاد باعث افزایش میکرو-ویسکوزیته در فاز غیر منجمد (سرم) بستنی و در نتیجه افزایش مقاومت به ذوب می‌شوند. املاح نیز با افزایش پایداری امولسیون سبب افزایش مقاومت به ذوب می‌شوند (Damodaran *et al.*, 2007) و به این ترتیب زمان بیشتری برای انتشار آب در این فاز و همچنین جریان آن از داخل به خارج بستنی و سپس چکه کردن از سوراخ‌های توری فلزی مورد استفاده در آزمایش مورد نیاز می‌باشد (Bahramparvar *et al.*, 2008). نتایج گرفته شده از ویسکوزیته در شکل 3 نیز نشان از وجود یک افزایش معنی‌دار در ویسکوزیته مخلوط بستنی گیاهی و بستنی معمولی در طی زمان رسانیدن داشت که با توجه به این نتیجه افزایش مقاومت به ذوب را می‌توان به افزایش ویسکوزیته و ثبات امولسیون آمیخته بستنی نیز نسبت داد؛ بنابراین می‌توان گفت تمام مکانیسم‌های مؤثر بر افزایش ویسکوزیته و ثبات امولسیون روی مقاومت به ذوب بستنی تأثیرگذارند. والسترا و همکاران (1995) در پژوهشی بیان داشتند که مخلوط بستنی که از ویسکوزیته بالاتری برخوردار است مقاومت به ذوب آن نیز بالاتر می‌باشد (Walstra *et al.*, 1995).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش به‌طور کلی نشان داد که زمان رسانیدن بر روی همه پارامترهای مورد بررسی و برای هر دو نمونه بستنی گیاهی بهینه شده با شیر سویا و کنجد و بستنی معمولی تأثیر معنی‌داری می‌گذارد و طی فرایند تولید مرحله رسانیدن به‌طور قطع باید برای بهبود کیفیت فیزیکوشیمیایی و بافتی به نحو مطلوبی اعمال گردد. مقادیر و ساختارهای متفاوت پروتئین‌های موجود در فرمولاسیون بستنی گیاهی و بستنی معمولی از جمله کازئین از مهم‌ترین علل تأثیرگذاری بر پارامترهای مختلف و همچنین تعیین بهترین و اقتصادی‌ترین زمان برای هر کدام از دو نوع بستنی بودند. در بستنی معمولی با وجود اینکه مقدار پروتئین کمتری در فرمولاسیون نهایی بستنی وجود داشت، اما با توجه به مقدار بیشتر کازئین و نقش عملکردی و مهم آن در ایجاد خصوصیات مهم مانند اورران و مقاومت به ذوب، بستنی معمولی در زمان کوتاهتری و در حدود 6 ساعت توانست در اکثر پارامترهای مورد بررسی مانند بافت، قوام، اورران و مقاومت به ذوب به مقادیر مطلوبی برسد و اما این مقادیر برای بستنی گیاهی تا حد 8 ساعت و گاهی بالاتر بودند. به‌نظر می‌رسد در این زمان‌ها می‌توان بهترین شرایط کیفی و اقتصادی را برای بستنی گیاهی و معمولی فراهم آورد. در نهایت می‌توان بیان داشت با توجه به وجود جمعیت زیاد گیاهخواران در ایران و سراسر دنیا و از سوی دیگر امکان تولید بستنی بدون لاکتوز برای افراد حساس به لاکتوز میتوان بر روی تولید بستنی بر پایه شیرهای گیاهی و بهبود فرآیند آنها از جمله مرحله رسانیدن پژوهش‌های بیشتری انجام داد.

منابع

Adhikari, B., Howes, T., Bhandari, B.R. and Truong, V., 2001. Stickiness in foods: a review of mechanisms and test methods. *International Journal of Food Properties*, 4, 1-33.

Ahmadian-Kouchaksaraei, Z., Varidi, M., Varidi, M.J. and Pourazarang, H., 2014. Influence of processing conditions on the physicochemical and sensory properties of sesame milk: A novel nutritional beverage. LWT-*Food Science and Technology*, 57, 299-305.

Akalın, A.S., Karagözlü, C. and Ünal, G., 2008. Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. *European Food Research and Technology*, 227, 889-895.

Asadinejad, S.h., Habibi Najafi, M.B., Razavi, S.M.A., Nasiri Mahallati, M., 2007. Effect of Stabilizers and Aging Times on Physicochemical and Organoleptic Properties of Soft Ice Cream, 18th Natianal Congress on Food Technology, Mashahd, Iran.

Bahramparvar, M. and Mazaheri Tehrani, M., 2011. Application and functions of stabilizers in ice cream. *Food Reviews International*, 27, 389-407.

BahramParvar, M. and Razavi, S., 2012. Rheological interactions of selected hydrocolloid–sugar–milk–emulsifier systems. *International Journal of Food Science & Technology*, 47, 854-860.

Bahramparvar, M., Hadad, K.M.H. and Mohamad, A.A., 2008. Effect of substitution of carboxymethylcellulose and salep gums with Lallemantia royleana hydrocolloid on ice cream properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 4, 37-47.

Dail, R.V. and Steffe, J.F., 1990. Rheological characterization of crosslinked waxy maize starch solutions under low acid aseptic processing conditions using tube viscometry techniques. *Journal of Food Science*, 55, 1660-1665.

Damodaran, S., Parkin, K.L. and Fennema, O.R. eds., 2007. Fennema's food chemistry. *CRC press*.

Dervisoglu, M., Yazici, F. and Aydemir, O., 2005. The effect of soy protein concentrate addition on the physical, chemical, and sensory properties of strawberry flavored ice cream. *European Food Research and Technology*, 221, 466-470.

Escamilla□Silva, E.M., Guzmán□Maldonado, S.H., Cano□Medinal, A. and González□Alatorre, G., 2003. Simplified process for the production of sesame protein concentrate. Differential scanning calorimetry and nutritional, physicochemical and functional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 972-979.

Goff, H. D. and R. W. Hartel (2013). Ice Cream. New York Springer.

Goff, H.D., 1997. Colloidal aspects of ice cream—a review. International Dairy Journal, 7, 363-373.

Goff, H.D., Davidson, V.J. and Cappi, E., 1994. Viscosity of ice cream mix at pasteurization temperatures. *Journal of dairy science*, 77, 2207-2213.

Herald, T.J., Aramouni, F.M. and ABU□GHOUSH, M.H., 2008. Comparison study of egg yolks and egg alternatives in French Vanilla ice cream. *Journal of texture studies*, 39, 284-295.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Isiri Number 639. Milk and Products_ Determination of the Total N (Kjeldahl).

Jangi, B., Mashkoh, A., 2003. Science technology of ice cream. Ayiizh Press, First Edition.

Jihad M. Ayman S. Khaled A. 2009. Development of Vegetable Based Milk from Decorticated Sesame (*Sesamum Indicum*). *American Journal of Applied Sciences* 6, 888-896

Kwok, K.C., Liang, H.H. and Niranjan, K., 2002. Optimizing conditions for thermal processes of soy milk. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 4834-4838.

Mahdian, E., Mazaheri Tehrani, M., Shahidi, F., 2011. Evaluation of the effect of Soy Flour on Rheological properties of ice cream. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 8, 107-114.

Mortazavi, S.A., Ghods Rohani, M., Joyandeh, H., 2003. Technology of Milk and Dairy Products. Ferdowsi University Press. First Edition.

Muse, M.R. and Hartel, R.W., 2004. Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. *Journal of dairy science*, 87, 1-10.

Shahrabi, A.A., Badii, F., Ehsani, M.R., Maftoonazad, N. and Sarmadizadeh, D., 2011. Functional and thermal properties of chickpea and soy-protein concentrates and isolates. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 6, 49-58.

Soukoulis C., Lebesi D., and Tzia C. 2009. Enrichment of ice cream with dietary fibre: Effects on rheological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. *Food Chemistry*, 115, 665–671.

Soukoulis, C., Chandrinos, I. and Tzia, C., 2008. Study of the functionality of selected hydrocolloids and their blends with κ-carrageenan on storage quality of vanilla ice cream. LWT-*Food Science and Technology*, 41, 1816-1827.

Varela, P., Pintor, A. and Fiszman, S., 2014. How hydrocolloids affect the temporal oral perception of ice cream. *Food hydrocolloids*, 36, 220-228.

Walstra, P., 1995. Physical chemistry of milk fat globules. *Advanced dairy chemistry*, 2, 131-178.

Yeganehzad, S., Tehrani, M.M., Shahidi, F. and Zayerzadeh, E., 2009. Study on the effect of soymilk on survival of Lactobacillus acidophilus, physicochemical and organoleptical properties of probiotic yoghurt. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 16, 165-173.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 528-539

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 539-528

An investigation on the effect of aging time on the physicochemical, rheological and textural properties of vegetable-based ice cream of soy and sesame

S. Ghaderi[1], M. Mazaheri Tehrani*[2], S. M. A. Razavi[2]

Received: 2016.05.06
Accepted: 2016.11.09

Introduction: In the food industry, it is preferred to alter the formulations rather than modifying the legislations, so as to reduce the risk of facing consumer health. For instance, animal fats and oils could be replaced with vegetable oils to manufacture products with low cholesterol and saturated fatty acids. Application of vegetable-based products like vegetable-based milks as the sources which provide vegetable proteins and lipids in ice cream not only incorporates the nutritional values and health-promoting effects of vegetable compounds into ice cream, but also leads to the production of a novel product with specific properties such as lactose-free products, which could be attractive and useful for consumers. Soymilk is avegetable-based milk with a suitable lipid and protein content. The main objective of this study was to investigate the aging time on physicochemical, rheological and textural changes of vegetable-based ice cream of soy and sesame, compared with the typical ice cream.

Materials and methods: Optimization of the vegetable-based ice cream was carried out by the textural parameters related to each other using RSM and the D-optimal design. The best soymilk: sesame milk ratio was found to be 55:45. Subsequently, all parameters including overrun, melting resistance, rheological properties and the textural variables during the aging times of 0, 2, 4, 6, 8 and 24 hours were examined for the evaluation of aging. The textural variables were measured in this method that after the 50-g samples of vegetable-based and typical ice creams were kept at ambient temperature for 5 min. A texture analyzer (Brookfield CT3-10kg,US) was employed to analyze their texture. To that end, a probe of 6 mm in diameter was selected to penetrate 15 mm into the sample at a rate of 2 mm/s. Rheological analysis was measured in this method that after 24 h of aging, the apparent viscosity of the ice cream mix samples was determined using a rotational viscometer (Bohlin Model Visco 88, Bohlin instruments, UK) equipped with a thermal circulator (Julabo, Model F12-MC, Julabo Labortechnik, Germany) with the shear rat of 51.8 1/s at 5±0.5°C.

Results and discussion: Investigation of the rheological and textural behavior of the samples showed that aging was significantly ($p<0.05$) effective on these properties in particular, viscosity, consistency coefficient and stiffness, as the slope of the changes was higher for the vegetable-based ice cream during aging. Also, overrun and melting resistance significantly ($p<0.05$) increased during aging so that the melting resistance of the vegetable-based ice cream was higher than that of the typical ice cream, contrary to overrun.

Conclusion: Overall, the best aging times of the vegetable-based and typical ice creams were 6 and 8 hours, respectively. The difference in the type and content of proteins, especially casein in the formulations was definitely the most important reason behind the changes in both types of the ice creams during aging.

Keywords: Aging, Vegetable- based ice cream, Soy, Sesame.

1 and 2. Ph.D. Student and Professor, Department of Food Science and Technology, Agriculture Fculty, Ferdowsi University of Mashhad.
(Corresponding author's Email: mmtehrani57@gmail.com)

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 540-552

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 552-540

ارزیابی خصوصیات حسی و بافتی مغز بادام‌زمینی برشته شده با روش رگرسیون حداقل مربعات جزئی

هادی باقری[1]- مهدی کاشانی نژاد[2*]- مهران اعلمی[3]- امان محمد ضیائی‌فر[4]

تاریخ دریافت: 1395/02/19
تاریخ پذیرش: 1395/06/20

چکیده

برشته کردن یکی از متداول‌ترین اشکال فرآوری مغزها بوده و هدف آن افزایش پذیرش کلی فرآورده است. در این پژوهش اثر دمای هوای داغ (140، 160 و 180 درجه سانتی‌گراد) و زمان (10، 20 و 30 دقیقه) برشته کردن در سرعت ثابت جریان هوای داغ (1 متر بر ثانیه) بر خصوصیات بافتی (نیروی شکست، سفتی، مدول الاستیسیته ظاهری، و انرژی فشاری) و حسی (رنگ، بافت، طعم و مزه، بوی برشته‌شدگی، پذیرش کلی و پذیرش نهایی) مغز بادام زمینی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد با افزایش دما و زمان فرایند برشته کردن خصوصیات بافتی همچون نیروی شکست (N 75/19 -45/92)، سفتی (N 81/74 -48/90)، مدول الاستیسیته ظاهری (N/s 508 /5/466-7) و انرژی فشاری (N.s 469/0 -199/1) کاهش وخصوصیات حسی همچون طعم و مزه و بوی برشته‌شدگی بهبود می‌یابد. همچنین نتایج بررسی خصوصیات حسی نشان داد که مغز بادام‌زمینی برشته شده دارای پذیرش مناسب‌تری از نظر رنگ (4/50)، بافت (4/15)، طعم و مزه (3/89)، بوی برشته‌شدگی (4/05)، پذیرش کلی (4/65) پذیرش نهایی (3/97) در دما و زمان برشته کردن 160 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه می‌باشد. نتایج ضریب اهمیت (ضریب استاندارد شده) بدست آمده در آزمون رگرسیون PLS درمورد متغیرهای نیروی شکست، سفتی، مدول الاستیسیته و انرژی فشاری نشان داد که به‌جزء پارامتر بوی برشته‌شدگی، در سایر پارامترهای حسی، مدول ظاهری الاستیسیته دستگاهی بالاترین ضریب اهمیت را در مدل رگرسیون PLS برای پیشگویی تک تک صفات حسی برخوردار بود. نتایج آزمون PLS نشان داد که روش دستگاهی اندازه‌گیری بافت به خوبی می‌تواند صفات حسی مغز برشته شده بادام‌زمینی را پیش‌بینی کند، در نتیجه اندازه‌گیری مدول الاستیسیه ظاهری مغز بادام‌زمینی با روش دستگاهی می‌تواند جایگزین بخشی از آزمون حسی به‌منظور ارزیابی کیفیت محصول گردد.

واژه‌های کلیدی: برشته کردن، ارزیابی حسی، رگرسیون PLS، مغز بادام‌زمینی

مقدمه

بادام‌زمینی از نظر کشت جزء دومین بقولات بعد از سویا محسوب می‌شود و می‌تواند تامین کننده مهترین نیازهای تغذیه‌ای انسان باشد (Jiao *et al*., 2015). این ماده غذایی با ارزش حاوی 36 تا 54 درصد روغن، 16 تا 36 درصد پروتئین و 10 تا 20 درصد کربوهیدرات می‌باشد. ارزش غذایی بالا، خوشمزه بودن، هضم راحت و کالری بالا از ویژگی‌هایی است که باعث شده این محصول جزء آجیل‌های پرمصرف شناخته شود، به‌علاوه بادام‌زمینی منبعی سرشار از مواد معدنی و ویتامین‌های مختلف به‌شمار می‌آید (Vollmannn and Rajcan, 2010). به‌جزء روغن‌کشی، بادام‌زمینی به‌علت دارا بودن ارزش تغذیه‌ای بالا همچون اسنک قابل استفاده و مصرف می‌باشد. بادام‌زمینی نمک‌زده برشته شده یکی از محبوب‌ترین اسنک‌های خوراکی محسوب می‌شود و برشته کردن یکی از مراحل اصلی تولید آن به‌شمار می‌آید (Yang *et al*., 2011) و به‌طور مستقیم در کیفیت (چیپسی، رنگ و طعم و مزه) و زمان ماندگاری محصول نهایی اثرگذار است (Chen *et al*., 2010).

برشته نمودن دانه‌های آجیلی منجر به ایجاد تغییر در رنگ، طعم، بافت و ظاهر آن‌ها می‌گردد، بنابراین برشته نمودن درست و اصولی مغزها و آجیل‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است. استفاده از ترکیب-های دما - زمان نامناسب منجر به کاهش کیفیت فرآورده، کاهش زمان ماندگاری و از دست دادن عطر و طعم مغزها خواهد شد (Kahyaoglu and Kaya, 2006; Saklar *et al*,. 2001). طعم و

1، 2، 3 و 4- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد، دانشیار و استادیار، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
(* - نویسنده مسئول: Email: kashani@gau.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.55793

بافت (تردی و شکنندگی) پارامترهایی هستند که معمولا در صنعت کنترل نمی‌شوند در حالی که از دید مصرف‌کننده، شاخص‌های مهمی هستند، لذا اثر برشته کردن بر این پارامترها نیز باید مورد بررسی قرار گیرد (Saklar *et al*., 1999).

بافت مغزهای برشته شده تأثیر زیادی در درک مصرف‌کنندگان از کیفیت محصول مورد نظر دارد و ارزیابی بافت مغز برشته شده اغلب مرحله مهمی در توسعه محصول جدید یا بهینه کردن متغیرهای یک فرآیند می‌باشد، بنابراین ارزیابی بافت مغزها ضروری و مهم به‌نظر می‌رسد (Saklar *et al*,. 1999) در این راستا بررسی خصوصیات بافتی مغزها توسط محققانی همچون Kita و Figiel (2006)، Kahyaoglu و Kaya (2006)، Nikzadeh و Sedaghat (2008) و Mohammadi Moghaddam و همکاران (2015) مورد بررسی قرار گرفته است. این محققان با بررسی اثر زمان و دما بر خصوصیات بافتی مغزها نشان دادند که با افزایش دما و زمان برشته کردن و همچنین با کاهش میزان رطوبت، میزان سختی بافت کاهش پیدا می‌کند. همچنین برخی از مطالعات اثر فرایند برشته کردن بر خصوصیات حسی و بافتی مغزها را مورد بررسی قرار دادند که می‌توان به مواردی همچون مطالعه Raei و همکاران (2009) و Shakerardekani و همکاران (2011) در خصوص ارتباط بین خصوصیات حسی و بافتی مغز پسته اشاره کرد.

از طرفی مطالعات در مورد مغزها با روش ارزیابی حسی نیز به کرات برای ارزیابی کیفیت بافت مغزها مورد استفاده قرار می‌گیرد و استفاده از حواس انسان برای ارزیابی مواد غذایی، دارای محدودیت‌های زیادی می‌باشد که اغلب ارزیابی حسی انجام شده داری خطا بوده و یا تکرارپذیری آن امکان‌پذیر نیست (Gambaro *et al*, 2004)، لذا استفاده از داده‌های دستگاهی که بتواند منعکس‌کننده اندازه‌گیری‌های حسی باشند و دارای همبستگی بالای با نتایج حسی باشند، می‌تواند مفید واقع گردد.

با توجه به بررسی انجام شده تاکنون هیچ تحقیقی در خصوص بررسی همزمان دو پارامتر دما و زمان برشته کردن بر خصوصیات بافتی و حسی بادام‌زمینی برشته شده و همچنین بررسی ارتباط بین خصوصیات دستگاهی و حسی با استفاده از رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLS) منتشر نشده است. بنابراین هدف از این مطالعه در مرحله اول بررسی اثرات دما و زمان (دماهای 140، 160 و 180 درجه سانتی‌گراد و زمان 10، 20 و 30 دقیقه) بر خصوصیات بافتی (نیروی شکست، سفتی، مدول الاستیسیته ظاهری و انرژی فشاری) و حسی و سپس بررسی به‌کارگیری رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLS) برای پیدا کردن روابط همبستگی بین خصوصیات حسی و بافت دستگاهی بود.

مواد و روش‌ها

بادام‌زمینی خام (رقم گلی) از مزرعه مینودشت تهیه و پس از آن به روش آفتابی (غیرمستقیم و در سایه به مدت 10 روز) خشک و تا زمان آزمایش در محل خشک نگهداری (برای نگهداری بادام‌زمینی در دمای 6 درجه سلیسیوس یخچال از کیسه‌های زیپ پک چند لایه استفاده گردید) شدند. بعد از سایزبندی، نمونه‌های با ابعاد یکسان برای انجام آزمایش انتخاب گردید. میزان رطوبت اولیه در مغزهای بادام‌زمینی حدود 5/1 درصد بر پایه ماده خشک بود که این مقدار رطوبت در شرایط استاندارد قرار داشت و متوسط ابعاد بادام‌زمینی استفاده شده در این آزمایش به ترتیب برای طول، عرض و ضخامت حدود 18/68، 9/63 و 7/85 میلی‌متر بود.

آماده‌سازی نمونه‌ها

برای آماده‌سازی نمونه‌ها، مغز بادام‌زمینی‌ها (100 گرم) به مدت 30 دقیقه با نسبت وزنی یک به پنج در محلول آب نمک 25 درصد قرار گرفت. در طی این مدت، نمونه‌ها به آرامی و با سرعت یکنواخت همزده شدند. در مرحله بعد، نمونه‌ها از آب نمک خارج و توسط فیلتر پارچه‌ای آب نمک سطحی آن‌ها گرفته شد و در ادامه فرایند برشته کردن بر روی بادام‌زمینی‌ها انجام گرفت. در این مرحله رطوبت مغز بادام‌زمینی به حدود 8/27 درصد بر پایه ماده خشک رسید (Mohammadi Moghaddam *et al*,. 2015).

فرایند برشته کردن

به‌منظور ایجاد شرایط ثابت در اتاقک برشته‌کن، دستگاه به مدت 15دقیقه قبل از شروع فرایند روشن گردید. مغزهای بادام‌زمینی به‌صورت لایه نازک در اتاقک برشته‌کن قرار گرفت. برشته کردن مغزهای بادام‌زمینی با سامانه هوای داغ در دماهای 140، 160 و 180 درجه سانتی‌گراد، زمان 10، 20 و 30 دقیقه و سرعت جابجایی هوای داغ ثابت (1 متر بر ثانیه) انجام گردید. سپس مغز برشته شده در پلاستیک‌های پلی اتیلنی بسته‌بندی شده و تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شدند.

خصوصیات بافتی

برای انجام آزمون بافت، ابتدا مغز بادام‌زمینی به دو نیمه تقسیم و از 3 قسمت کاملا یکسان برای اندازه‌گیری آزمون بافت استفاده شد (Kita and Figiel, 2006). بدین منظور برای انجام آزمون فشاری از دستگاه بافت‌سنج TA-XT Plus Texture Analyzer (Micro Systems Ltd., Surrey, UK TA-XT Plus, Stable, England) استفاده شد. پروب استوانه‌ای شکل به قطر 25 میلی‌متر و با سرعت 5 میلی‌متر بر دقیقه مورد استفاده قرار گرفت. اتمام آزمون

زمانی بود که بافت کاملا تخریب شده باشد. دانه‌های نصف شده بادام‌زمینی از قسمت تعادل (بعد ضخامت) مورد آزمون فشاری قرارگرفتند. خروجی‌های به‌دست آمده توسط دستگاه بافت‌سنج به‌صورت نیرو - زمان می‌باشد. بنابراین واحد پارامترهای بافتی هم بر اساس نیوتن و ثانیه محاسبه شد. پارامترهای مکانیکی بافتی به‌دست آمده شامل نیروی شکست (N)، سفتی (N)، مدول الاستیسیته ظاهری (N/s) و انرژی فشاری (N.s) بودند. نیروی شکست مقدار نیرو در شروع نقطه شکست می‌باشد که با توجه به داده‌های این آزمایش به‌عنوان اولین نیرو در نقطه شکست در نظر گرفته شد که ممکن است با سفتی یکی باشد. سفتی به‌عنوان حداکثر نیرو در طول آزمایش در نظر گرفته شد. مدول الاستیسیته ظاهری نسبت نیرو به زمان در محدوده الاستیک می‌باشد. انرژی فشاری سطح زیر منحنی نیرو- زمان می‌باشد که بیانگر مقدار کار تا حداکثر نیروی نهایی است (Mohammadi Moghaddam *et al*,. 2015).

خصوصیات حسی

برای بررسی خصوصیات حسی مغز بادام‌زمینی برشته شده از 10 دانشجویی صنایع غذایی آموزش دیده (تعداد 7 خانم و 3 آقا بین محدود سنی 22 الی 30) دانشگاه علوم کشاورزی گرگان و موسسه آموزش عالی بهاران) به‌عنوان داور استفاده گردید. در این بررسی از مقیاس هیدونیک 5 نقطه‌ای استفاده گردید. خصوصیات مورد نظرشامل، رنگ، بوی برشته‌شدگی، طعم و مزه، سفتی و پذیرش کلی (امتیاز کسب شده توسط داور) و پذیرش نهایی (میانگین امتیاز خصوصیات حسی) بود.

به‌کارگیری رگرسیونPLS

یکی از ابزارهای مهم برای پیش‌بینی متغیرهای وابسته از روی متغیرهای مستقل، استفاده از معادلات رگرسیون می‌باشد. وجود برخی از معایب همچون وجود هم خطی بین متغیرهای مستقل یا توضیحی در برخی از مطالعات باعث نامعتبر شدن مطالعات رگرسیونی (حداقل مربعات عمومی) شده است. از این رو محققان روش‌های جدیدی برای بنا کردن معادله پیش‌بینی ارائه داده‌اند که روش رگرسیونی موسوم به کمترین مربعات جزئی (PLS) از مهمترین این معادلات می‌باشد. دراین روش مؤلفه‌های جدید متعامدی که ترکیب خطی از متغیرهای اولیه هستند، ایجاد شده سپس از این مؤلفه‌ها برای ساختن معادله رگرسیونی استفاده می‌شود. در مدل رگرسیون PLS ضرایب استاندارد VIP[1] منعکس کننده اثر تک تک xها بر روی yها می‌باشد و به آسانی در نمودار PLS قابل مشاهده است و به این ترتیب مؤثرترین متغیرها و درجه اهمیت آن‌ها به سرعت شناسایی و تشخیص داده می‌شوند (Tenenhaus *et al*., 2005). آزمون رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLS) می‌تواند به‌خوبی ویژگی‌های حسی بافت را بوسیله اندازه‌گیری‌های دستگاهی بافت پیش‌بینی کند و ارتباط بین ماتریس‌های حسی و فیزیکی را مورد آنالیز قرار دهد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تاثیر متغیرهای مستقل (دما و زمان برشته شدن) بر متغیرهای وابسته با استفاده از طرح فاکتوریل و تجزیه واریانس توسط نرم‌افزار آماری Minitab 16 انجام شد. مقایسه میانگین در سطح 5 درصد انجام شد و سپس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن گروه‌بندی و مقایسه نتایج به کمک نرم‌افزار صورت گرفت. همچنین به‌منظور بررسی روابط بین متغیرهای مستقل (نیروی شکست، سفتی، مدول الاستیسیته ظاهری و انرژی فشاری) و وابسته صفات حسی مغز بادام‌زمینی برشته شده شامل رنگ، بافت، طعم و مزه، پذیرش کلی و پذیرش نهایی) از روش رگرسیون کمترین مربعات جزئی (PLS) با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 انجام گردید.

نتایج و بحث

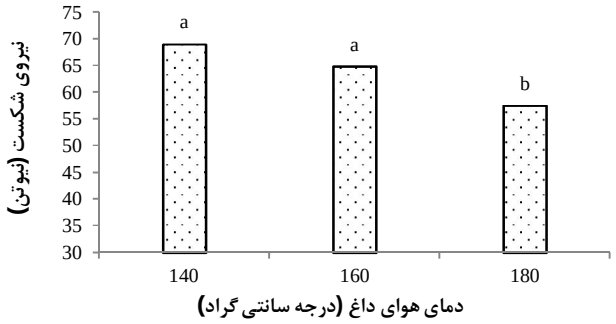
نیروی شکست

آنالیز واریانس نشان‌دهنده اثر معنی‌داری دما و زمان بر میزان نیروی شکست بود ($P<0.05$)، اما برهمکنش دوگانه دما و زمان بر میزان نیروی شکست معنی‌دار نبود ($P\geq0.05$). شکل 1 و 2 به ترتیب نشان‌دهنده اثر مستقل دما و زمان بر میزان نیروی شکست می‌باشد، و اثر برهمکنش دوگانه دما و زمان در جدول 1 آورده شده است. همان‌طور که در شکل1 و 2 دیده می‌شود با افزایش دما و زمان فرایند برشته کردن میزان نیروی شکست کاهش یافت. با افزایش دما و زمان فرایند، میزان رطوبت در مغز بادام‌زمینی کاهش یافته و مغز بادام‌زمینی ترد و شکننده می‌شود، بنابراین نیروی شکست کاهش می‌یابد. طی فرایند برشته کردن بافت مغزها شکننده می‌شوندکه این ویژگی یکی از خصوصیات فرآورده‌های برشته شده است (Vincent, 2004).

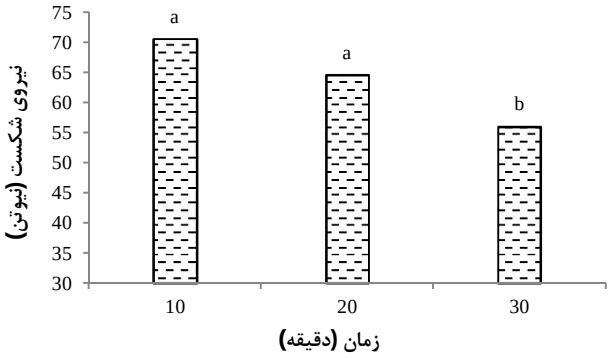
با توجه به جدول1، نیروی شکست مغزهای برشته شده در دما و زمان‌های مختلف، در دامنه N 45/92 -75/19 قرار داشت و به‌ترتیب پائین‌ترین و بالاترین نیروی شکست مربوط به مغز بادام‌زمینی برشته شده با دمای هوای داغ 180به مدت 30 دقیقه و 140 دقیقه به مدت 10 دقیقه بود.

محققانی همچون Saklar و همکاران (1999)، Dogan و Cronin (2004)، Sedaghat و Nikzadeh (2008)، Mohammadi Moghaddam و همکاران (2015) گزارش دادند که طی برشته کردن دانه‌ها نیروی شکست کاهش می‌یابد.

1 Variable Importance in Projection



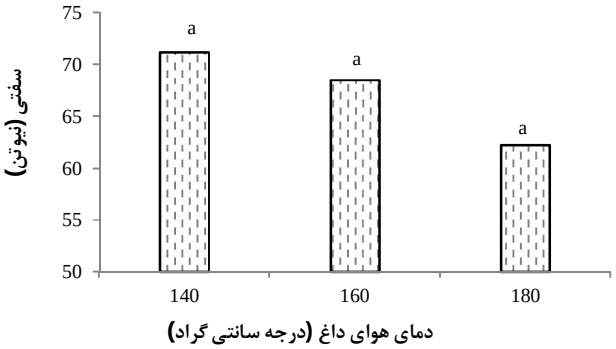
شکل 1- اثر دمای هوای داغ بر میزان نیروی شکست در طول فرایند برشته شدن



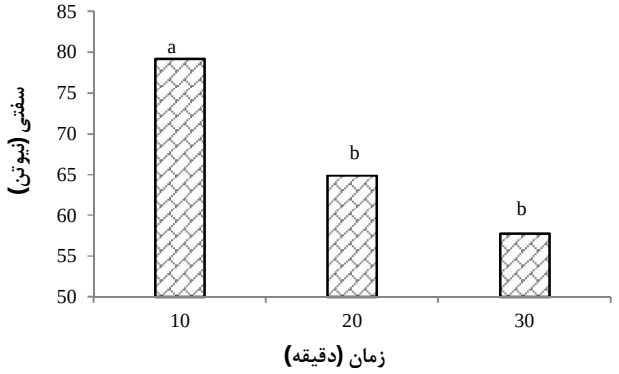
شکل 2- اثر زمان فرایند برشته کردن بر میزان نیروی شکست در طول فرایند برشته شدن

سفتی اندازه‌گیری شده به روش دستگاهی

سفتی یکی از پارامترهای مهم و تاثیرگذار است که باید طی فرایند برشته کردن کنترل شود. بررسی آنالیز واریانس نشان داد که اثر زمان برشته کردن بر سفتی بافت معنی‌دار است ($P<0.05$)، اما اثر دما و اثر متقابل دما و زمان بر میزان سفتی معنی‌دار نبود ($P\geq0.05$). افزایش دمای برشته کردن باعث کاهش نیروی شکست شد، اما این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (شکل3). اثر زمان بر میزان سفتی نشان‌دهنده کاهش سفتی با گذشت زمان برشته کردن می‌باشد، به‌طوری که با گذشت 30 دقیقه از زمان فرایند میزان سفتی بافت به 57/79 N رسید (شکل 4). این بدین معنی است که قدرت بافت مغز بادام‌زمینی در طی فرایند برشته کردن کاهش می‌یابد. برشته کردن دانه‌های آجیلی منجر به نفوذ تدریجی گرما در مغز شده و در نتیجه باعث کاهش رطوبت و سختی و افزایش تردی مغز می‌شود (Mohammadi Moghaddam *et al*,. 2015).



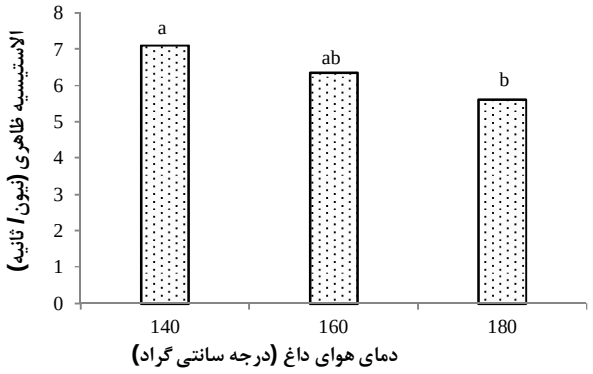
شکل 3- اثر دمای هوای داغ بر سفتی بافت مغز بادم‌زمینی در طول فرایند برشته شدن



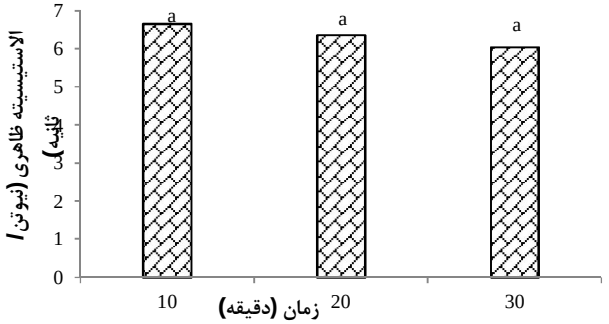
شکل 4- اثر زمان برشته کردن بر سفتی بافت مغز بادم‌زمینی در طول فرایند برشته شدن

مدول الاستیسیته ظاهری

مقدار مدول الاستیسیته ظاهری وابسته به میزان سفتی نمونه برشته شده است و این مدول قبل از ایجاد هرگونه شکست در بافت اندازه‌گیری می‌شود و مقدار آن از روی شیب ناحیه خطی (ابتدایی) منحنی نیرو- زمان محاسبه می‌شود (Mohammadi Moghaddam *et al*,. 2015)؛ به‌عبارت دیگر شیب ناحیه خطی منحنی نیرو- زمان نشان‌دهنده مدول مدول الاستیسیته ظاهری می‌باشد (Shieh *et al*., 2004).اثر دمای برشته کردن بر مدول الاستیسیته ظاهری مغزهای بادام‌زمینی معنی‌دار بود ($P<0.05$) (شکل 5) اما اثر زمان و اثر متقابل این دو فاکتور بر مدول الاستیسیته ظاهری معنی‌دار نبود ($P\geq0.05$) (شکل 6 و جدول 1).



شکل 5- اثر دمای برشته کردن بر میزان مدول الاستیسیته ظاهری در طول فرایند برشته شدن



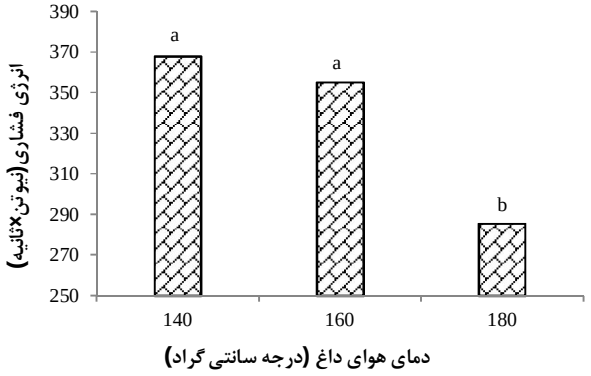
شکل 6- اثر زمان برشته شدن بر میزان مدول الاستیسیته ظاهری در طول فرایند برشته شدن

رنج مدول الاستیسیته ظاهری برای مغزهای برشته شده بین N/s 5/467-7/51 قرار داشت به‌طوری که بالاترین مقدار مدول الاستیسیته ظاهری مربوط به نمونه برشته شده در دمای 140 درجه سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه و پائین‌ترین مقدار آن مربوط به نمونه

برشته شده در دمای 180 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه می‌باشد (جدول 1).

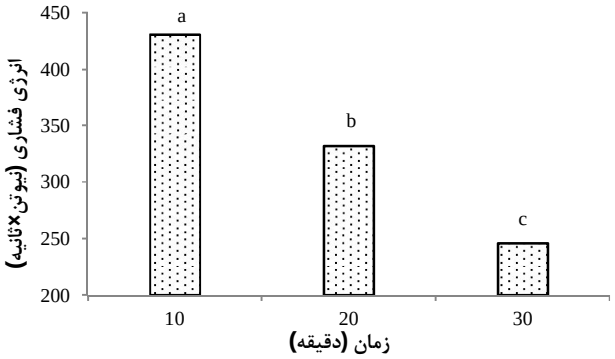
انرژی فشاری

انرژی فشاری نشان‌دهنده میزان کار لازم برای رسیدن به نقطه نهایی شکست یعنی سفتی می‌باشد و از محاسبه سطح زیر منحنی نیرو- زمان بدست می‌آید؛ به عبارت دیگر انرژی فشاری نشان‌دهنده میزان قدرت پیوندهای بین ملکولی در ماده است (Razavi and Edalatian, 2012). اثر شرایط فرایند بر انرژی فشاری معنی‌دار بود به‌طوری که با افزایش دما و زمان فرایند میزان انرژی فشاری کاهش یافت ($P<0.05$). مقدار انرژی فشاری مشاهده شده برای مغز بادام‌زمینی در رنج N.s 496- 199 قرار داشت.



شکل 7- اثر دمای برشته کردن بر میزان انرژی فشاری در طول فرایند برشته شدن

با افزایش دما از 140 به 160 درجه سانتی‌گراد میزان انرژی فشاری کاهش یافت اما از لحاظ آماری معنی‌دار نبود و استفاده از دمای 180 درجه سانتی‌گراد، میزان انرژی فشاری را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (شکل 7). شکل 8 اثر زمان فرایند را بر انرژی فشاری نشان می‌دهد. با افزایش زمان فرایند میزان انرژی فشاری به‌طور پوسته کاهش یافت. برهمکنش دوگانه بین دمای هوای داغ و زمان فرایند بر انرژی فشاری مغز بادام‌زمینی معنی‌دار نبود ($P\geq0.05$) (جدول1).



شکل 8- اثر زمان برشته کردن بر میزان انرژی فشاری در طول فرایند برشته شدن

خصوصیات حسی مغز بادام‌زمینی برشته شده

جدول 2 و 3 نتایج مقایسه میانگین آزمون ارزیابی حسی نمونه‌های بادام‌زمینی برشته شده را نشان می‌دهد. رنگ به‌عنوان اولین فاکتور و پارامتر برای کنترل فرایند برشته کردن استفاده می‌شود، چرا که پیگمان‌های رنگی در طول فرایند برشته کردن در اثر واکنش‌های شیمیایی همچون واکنش‌های قهوه‌ای شدن و کاراملیزاسیون افزایش می‌یابد (Moss and Otten, 1989)

بررسی ویژگی حسی رنگ نشان داد که اثر دما و اثر متقابل دما و زمان به‌طور معنی‌داری بر میزان پذیرش تاثیر گذارند ($P<0.05$)، این در حالی است که اثر زمان بر این ویژگی معنی‌دار نبود ($P\geq0.05$). بررسی اثر دما نشان داد که با افزایش دما از 140 به 160 درجه سانتی‌گراد امتیاز حسی رنگ افزایش یافت، اما امتیاز پذیرش رنگ در دمای 180 درجه سانتی‌گراد با کاهش معنی‌دار مواجه شد که علت این

امر به دلیل ایجاد رنگ تیره نامطلوب در نمونه‌های برشته شده در دمای 180 درجه سانتی‌گراد بود.

برای ارزیابی بافت مواد غذایی جامد و مغزها، نمونه‌ای از ماده غذایی بین دندان‌های آسیاب قرار گرفته و میزان مطلوبیت و یا سفتی بافت اندازه گیری می‌شود (Bourne, 2002). بررسی امتیاز حسی بافت نشان داد که با افزایش دما و زمان فرایند، میزان امتیاز بافت به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0.05$) و اثر متقابل این دو پارامتر بر امتیاز حسی بافت معنی‌دار نبود ($P\geq0.05$) (جدول 2 و 3). فرایند برشته کردن با تغییر ساختار داخلی مغزها، منجر به ایجاد مطلوبیت در بافت شده و بافت مغز ترد و شکننده می‌شود؛ از این‌رو در طی فرایند برشته کردن میزان مطلوبیت بافت افزایش یافت (Lee and Resurreccion 2006).

بهبود مطلوبیت بافت در طی فرایند برشته کردن توسط بسیاری از محققان همچون Saklar و همکاران (1999)، Wanlapa و Jindal (2006)، Varela و همکاران (2008)، McDaniel و همکاران (2012) و Mohammadi Moghaddam و همکاران (2015) اشاره شده است.

فرایند برشته کردن منجر به ایجاد طعم و مزه مطلوب در مغزها و در نتیجه منجر به افزایش پذیرش محصول می‌شود (Buckholz *et al.*, 1980; Mayer, 1985). بررسی اثر دما و زمان و اثر متقابل دما و زمان بر طعم و مزه بادام‌زمینی برشته شده، نشان‌دهنده اثر معنی‌داری این پارامترها بر میزان پذیرش طعم و مزه بود (جدول 2 و 3) در طول فرایند برشته کردن تغییرات شیمیایی در ترکیبات پروتئینی و کربوهیدارتی منجر به ایجاد طعم و مزه و بوی برشته شدگی می‌گردد.

بررسی بوی برشته شدگی نشان داد که فقط اثر زمان باعث تغییر معنی‌داری این پارامتر می‌شود و دما و اثر متقابل این دو پارامتر بر عطر و طعم برشته شدگی معنی‌دارنبود (جدول 2 و 3)

Buckholz و همکاران (1980) گزارش کردند که زمان برشته کردن تاثیر معنی‌داری در میزان طعم و مزه فرآورده می‌گذارد.

میزان پذیرش کلی نشان‌دهنده امتیاز داده شده توسط پانلیست‌ها می‌باشد و پذیرش نهایی میانگین امتیازات داده شده توسط پانلیست‌ها می‌باشد. بالاترین میزان پذیرش کلی مربوط به نمونه برشته شده در دمای 160 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه می‌باشد و استفاده از دمای 180 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه منجر به کاهش پذیرش کلی و نهایی فرآورده گردید (جدول 2 و 3).

جدول 1- برهمکنش دمای هوای داغ و زمان برشته شدن بر پارامترهای بافتی مغز بادام‌زمینی برشته شده.

دما (°C)	زمان (دقیقه)	نیروی شکست (نیوتون)	سختی (نیوتون)	مدول ظاهری (ثانیه/نیوتون)	انرژی فشاری (نیوتون× ثانیه)
140	10	75/19^{a*}	81/74^{a}	7/508^{a}	469/0^{a}
140	20	69/30^{ab}	69/30^{abc}	7/205^{a}	364/6^{abcd}
140	30	62/49^{ab}	62/49^{bcd}	6/598^{a}	269/7^{de}
160	10	68/97^{ab}	76/96^{ab}	6/618^{a}	441/7^{ab}
160	20	65/67^{ab}	66/54^{abc}	6/394^{a}	355/0^{bcd}
160	30	59/65^{b}	61/99^{bcd}	6/050^{a}	268/3^{de}
180	10	67/67^{ab}	78/96^{ab}	5/861^{a}	380/7^{abc}
180	20	58/88^{b}	58/88^{cd}	5/486^{a}	276/7^{cde}
180	30	45/92^{c}	48/90^{d}	5/466^{a}	199/1^{e}

*حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح 5 درصد است.

جدول2- اثر دما و زمان برشته کردن بر خصوصیات حسی مغز بادام‌زمینی

پارامتر کیفی		دما (درجه سانتی‌گراد)			زمان (دقیقه)		
		140	160	180	10	20	30
پارامترهای حسی	رنگ	3/95^{b*}	4/23^{a}	3/45^{c}	3/83^{a}	3/92^{a}	3/88^{a}
	بافت	3/20^{b}	3/86^{a}	3/98^{a}	3/55^{b}	3/65^{ab}	3/84^{a}
	طعم و مزه	2/96^{b}	3/56^{a}	3/26^{a}	2/98^{b}	3/29^{a}	3/40^{a}
	بوی برشته شدگی	3/41^{a}	3/62^{a}	3/61^{a}	3/23^{b}	3/55^{ab}	3/88^{a}
	پذیرش کلی	4/08^{b}	4/33^{a}	4/05^{b}	3/98^{b}	4/23^{a}	4/25^{a}
	پذیرش نهایی	3/45^{b}	3/74^{a}	3/55^{b}	3/43^{b}	3/58^{ab}	3/63^{a}

*حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح 5 درصد است.

جدول 3- برهمکنش دما و زمان برشته کردن بر پارامترهای حسی مغز بادام‌زمینی برشته شده

دما (°C)	زمان (دقیقه)	رنگ	بافت	طعم و مزه	بوی برشته شدگی	پذیرش نهایی	پذیرش کلی
140	10	3/9^{bcd*}	3/12^{d}	2/71^{d}	3/06^{b}	3/24^{d}	4^{b}
140	20	3/95^{bc}	3/19^{d}	2/93^{cd}	3/38^{ab}	3/35^{cd}	4/1^{b}
140	30	4^{bc}	3/28^{d}	3/25^{bc}	3/80^{ab}	3/46^{bcd}	4/15^{b}
160	10	4/05^{b}	3/65^{c}	2/95^{cd}	3/20^{ab}	3/54^{bcd}	4^{b}
160	20	4/15^{ab}	3/78^{bc}	3/51^{ab}	3/67^{ab}	3/71^{ab}	4/35^{ab}
160	30	4/5^{a}	4/15^{a}	3/89^{a}	4/05^{a}	3/97^{a}	4/65^{a}
180	10	3/55^{d}	3/88^{abc}	3/28^{bc}	3/44^{ab}	3/53^{bcd}	3/95^{b}
180	20	3/65^{cd}	3/98^{abc}	3/44^{ab}	3/60^{ab}	3/68^{abc}	4/25^{b}
180	30	3/15^{e}	4/1^{ab}	3/05^{bcd}	3/80^{ab}	3/45^{bcd}	3/95^{b}

*حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌داری در سطح 5 درصد است.

همبستگی بین خصوصیات حسی و خصوصیات بافتی

ارتباط میان اندازه‌گیری‌های خصوصیات بافتی مغز برشته شده به روش دستگاهی و پذیرش حسی مغز برشته شده به روش ارزیابی حسی در شکل 9 و جدول 4 نشان داده شده است با توجه به جدول 4 بالاترین میزان ارتباط بین مدول الاستیسیته ظاهری و پذیرش بافت دیده شد که یک ارتباط خطی منفی قوی می‌باشد و بدین معنی است که با افزایش مدول الاستیسیته ظاهری از میزان پذیرش بافت کاسته می‌شود. بین خصوصیات حسی و خصوصیات بافت دستگاهی به‌جز رنگ یک همبستگی منفی وجود دارد. این بدین معنی است که با افزایش پارامترهای همچون نیروی شکست، سفتی، مدول الاستیسته ظاهری و انرژی فشاری از میزان طعم و مزه، بوی برشته‌شدگی، پذیرش بافت و پذیرش کلی و نهایی کاسته می‌شود.

این داده‌ها نشان‌دهنده راهکاری مفید برای صنعت می‌باشد، چرا که استفاده از داده‌های دستگاهی در مقابل داده‌های حسی (نیازمند آموزش پانلیست و هزینه زیاد) از دقت بالاتری و با هزینه کمتری امکان پذیر است و می‌توان از این طریق میزان پذیرش مصرف کننده را تخمین زد (Gonzalez Vinas *et al*,. 2007).

جدول 4- ضریب همبستگی میان داده‌های حسی و سفتی دستگاهی مغز برشته شده بادام‌زمینی

	رنگ	بافت	طعم و مزه	بوی برشته شدگی	پذیرش کلی	پذیرش نهایی
نیروی شکست (N)	0/4663	-0/6996	-0/3712	-0/7359	-0/2152	-0/3423
سفتی (N)	0/2891	-0/5319	-0/4148	-0/7857	-0/3675	-0/3506
مدول الاستیسته (N.s)	0/4480	-0/9037	-0/5693	-0/6124	-0/2842	-0/56
انرژی فشاری(N/s)	0/2781	-0/5718	-0/5281	-0/8801	-0/4099	-0/4091

بررسی درصد تغییرات و تعداد مولفه‌ها

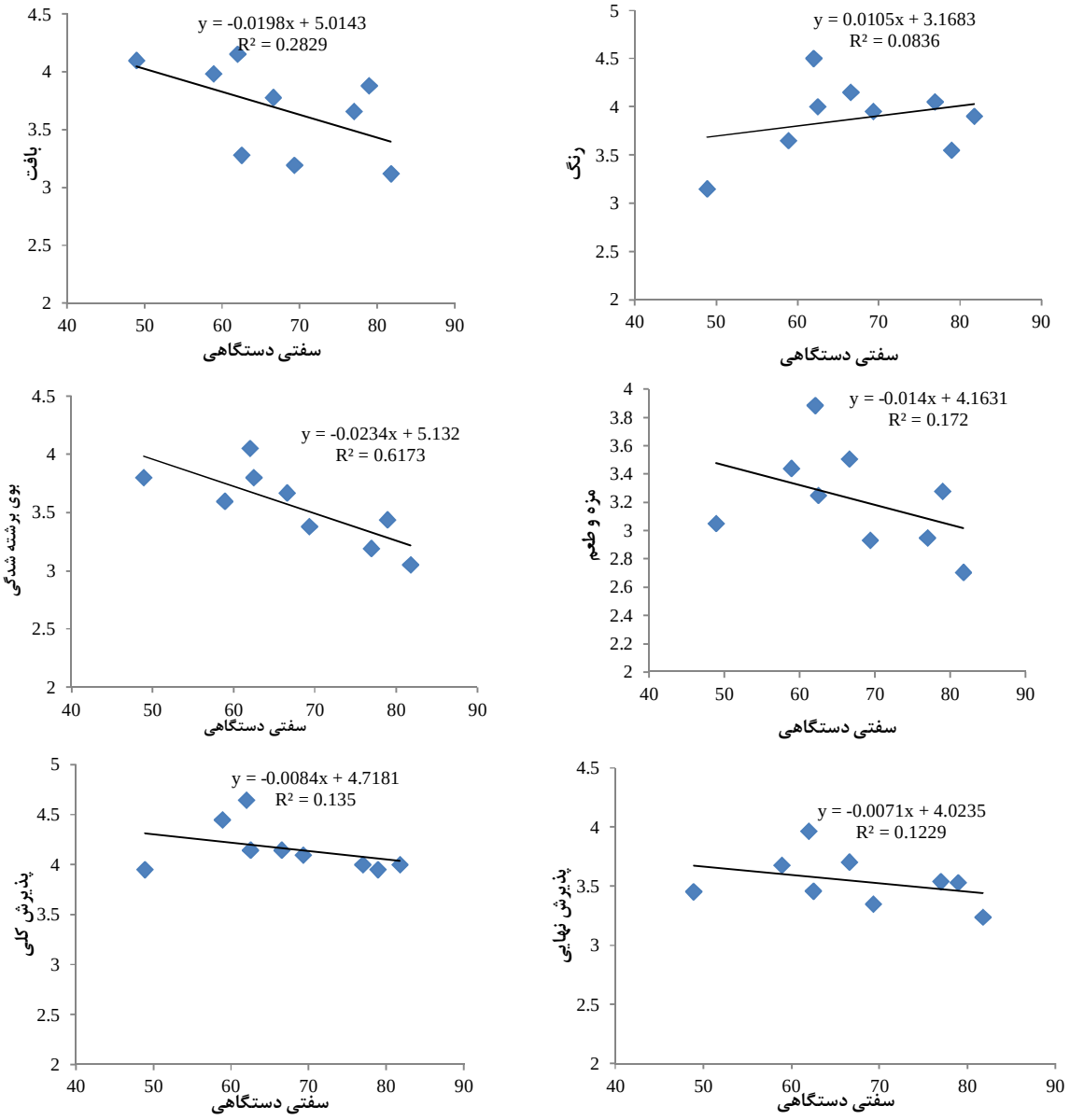
جدول 5 نشان‌دهنده درصد تغییرات و تعداد مولفه‌های PLS به‌کار رفته برای آنالیز حسی داده‌ها می‌باشد. همان‌طور که در این جدول دیده می‌شود بالاترین درصد تغییرات و تعداد مولفه‌های PLS مربوط به بوی برشته شدگی با 99/24 درصد و 3 مولفه PLS می‌باشد. اگر تعداد مولفه‌های PLS مورد استفاده در رگرسیون برابر با تعداد متغیرهای به‌کار رفته در آزمایش باشد، ضریب رگرسیون PLS نشان‌دهنده ضریب رگرسیون چندمتغیره می‌باشد (Martens and Martens, 1986). در این مطالعه تعداد مولفه‌های PLS کمتر از تعداد متغیرهای تجربی بود.

ضریب اهمیت در رگرسیون PLS

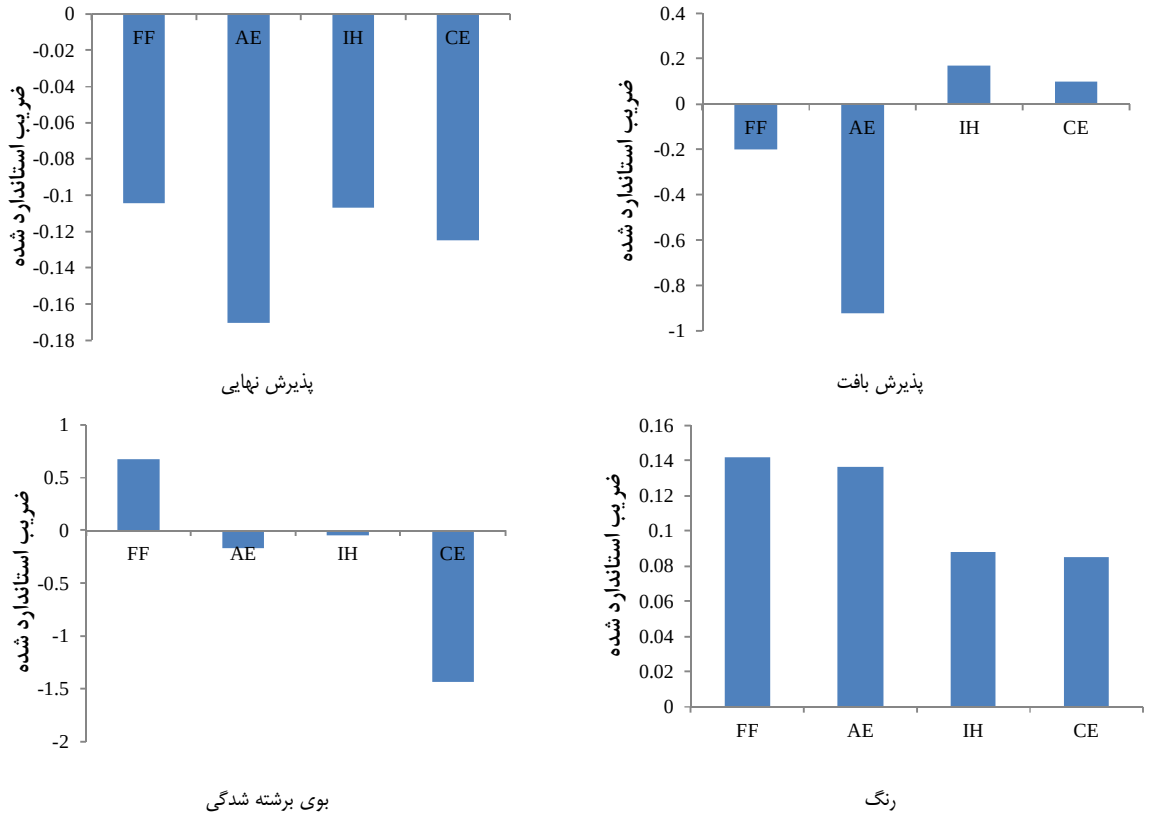
برای مشخص نمودن ضریب اهمیت و تأثیر متغیرهای وابسته مورد بررسی در این مطالعه (صفات حسی مغز برشته شده مانند رنگ، بافت، طعم و مزه، بوی برشته‌شدگی، پذیرش کلی و پذیرش نهایی) با تک تک متغیرهای مستقل (نیروی شکست، سفتی، مدول ظاهری الاستیسیته و انرژی فشاری) نمودار ضرایب استاندارد شده برای برخی از متغیرهای وابسته در رگرسیون در شکل 10 نشان داده شد. در این اشکال هرچه فاصله اثر به عدد یک نزدیکتر و یا بیشتر باشد اهمیت بالاتری پیدا می‌کنند.

جدول 5- درصد تغییرات و تعداد مولفه‌های به‌کار رفته برای آنالیز حسی داده‌ها

خصوصیات حسی	درصد تغییرات توضیح داده شده	تعداد مولفه‌های PLS
رنگ	86/93	1
بافت	97/59	2
طعم و مزه	87/15	1
بوی برشته شده‌گی	99/24	3
پذیرش کلی	87/30	1
پذیرش نهایی	86/85	1



شکل 9- نمودارهای همبستگی پیرسون بین اندازه‌گیری‌های سفتی دستگاهی با خصوصیات حسی



شکل 10- ضریب اهمیت تخمین زده شده بوسیله رگرسیون PLS بین متغیرهای مستقل با متغیرهای وابسته (بافت و پذیرش نهایی، رنگ و بوی برشته‌شدگی)

بنابراین همانطور که در شکل 10 مشاهده می‌گردد اندازه‌گیری مدول الاستیسیته ظاهری بافت مغز بادام‌زمینی برشته شده به روش دستگاهی بالاترین اهمیت را در خصوص ویژگی‌های مانند پذیرش بافت و پذیرش نهایی دارد، این در حالی است که ضرایب اهمیت نیروی شکست و نیروی فشاری به‌ترتیب برای خصوصیات همچون رنگ و بوی برشته‌شدگی از اهمیت بالاتری برخوردار است. با توجه به شکل 10 مشخص شد که مدول الاستیسیته ظاهری و سفتی برای پیشگویی بوی برشته‌شدگی مفید نمی‌باشند و از اهمیت پائین‌تری برای پیشگویی بوی برشته‌شدگی برخورداند.

نتیجه‌گیری

برشته کردن یکی از روش‌های بهبود طعم و مزه در مغزها به‌شمار می‌آید و شرایط برشته کردن نقش مهمی در بروز خصوصیات بافتی و حسی دارد. نتایج برشته کردن نشان داد که برشته کردن در دمای 160 به مدت 30 دقیقه تاثیر معنی‌داری در بهبود خصوصیات بافتی و حسی دارد و به‌کارگیری این دما و زمان منجر به افزایش میزان امتیاز پذیرش حسی گردید. نتایج آزمون PLS نشان داد که روش دستگاهی اندازه‌گیری بافت به خوبی می‌تواند صفات حسی بافت مغز بادام‌زمینی را پیش‌بینی کند در نتیجه اندازه‌گیری بافت مغز بادام‌زمینی به روش دستگاهی می‌تواند جایگزین بخشی از روش ارزیابی حسی به‌منظور ارزیابی کیفیت مغز بادام‌زمینی گردد.

منابع

Bourne, MC., 2002, Food texture and viscosity: concept and measurement. Elsevier Science and Technology Books, *New York*.

Buckholz, LL., Daun, H., Stier, E. & Trout, R., 1980, Influence of roasting time on sensory attributes of fresh roasted peanuts. *Journal of Food Science*, 45, 547–554.

Chen, T., Kang, B., Chen, S., Chen, H. & Lin, H., 2010, Optimized parameters and quality analysis of salty and crisp peanut by far infrared roasting. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 26(8), 320–325.

Dogan, DA. & Cronin, K., 2004. The thermal kinetics of texture change and the analysis of texture variability for raw and roasted hazelnuts. *International Journal Food Science Technology*, 39, 371–383.

Gambaro, A., Fiszman, S., Gimenez, A., Varela, P. & Salvador. A., 2004, Consumer acceptability compared with sensory and instrumental measures of white pan bread: sensory shelf-life estimation by survival analysis. *Journal of Food Science*, 69(9), S401-S405.

GonzalezVinas, MA. Ballesteros, C., Martín-Alvarez, PJ. & Cabezas, L., 2007, Relationship between sensory and instrumental measurements of texture for artisanal and industrial Manchego cheeses. *Journal Sens Stud*, 22, 462–476.

Jiao, S., Zhu, D., Deng, Y. & Zhao, Y., 2015, Effects of Hot Air-assisted Radio Frequency Heating on Quality and Shelf-life of Roasted Peanuts. *Food Bioprocess Technology*, 15-1624-1637

Kahyaoglu, T. & Kaya, S., 2006. Modelling of moisture, color and texture changes in sesame seeds during the conventional roasting. *Journal of Food Engineering*, 75(2):167–177.

Kita, A. & Figiel, A., 2006, the effect of roasting on the texture of walnuts. Acta Agrophysica. 7(1), 87–97.

Lee, CM. & Resurreccion, AVA. 2006, Predicting sensory attribute intensities and consumer acceptance of stored roasted peanuts using instrumental measurements. *Journal Food Quality* 29(4):319–338.

Martens, M. & Martens, H., 1986, Partial least squares regression. In: Piggott JR (Ed) Statistical procedures in food research. Elsevier *Applied Science*, London.

Mayer, KP, 1985. Infrared roasting of nuts, particularly hazelnuts. Confectionary Production, 51, 313–314.

McDaniel, KA. White, BL., Dean, LL. Sanders, TH. & Davis, JP, 2012, Compositional and mechanical properties of peanuts roasted to equivalent colors using different time/temperature combinations. *Journal of Food Science*, 15, 458-465.

Mohammadi Moghaddam, T., Razavi, S M.A., Taghizadeh, M. & Sazgarnia, A., 2015, Sensory and instrumental texture assessment of roasted pistachio nut/kernel by partial least square (PLS) regression analysis: effect of roasting conditions. *Journal of Food Science Technolgy*.

Moss, JR. & Otten, L., 1989, A relationship between color development and moisture content during roasting of peanuts. *Canadian Institute of Food Science and Technology*, 22, 34–39.

Nikzadeh, V. & Sedaghat, N., 2008, Physical and sensory changes in pistachio nuts as affected by roasting temperature and storage. *Am Eurasian Journal of Agricalgeral Environ Science*, 4, 478–483.

Ozdemir, M. & Devres, O.Y., 2000, Analysis of color development during roasting of hazelnuts using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 45, 17–24.

Raei, M., Mortazavi, A. & Pourazarang, H., 2009, Effects of packaging materials, modified atmospheric conditions and storage temperature on physicochemical properties of roasted pistachio nut. *Food Anal Methods*, 3, 129–132.

Razavi, SMA. & Edalatian, MR., 2012, Effect of moisture content and compression axis on physical and mechanical properties of pistachio kernel. *International Journal Food Prop* 15,507–517.

Saklar, S., Ungan, S. & Katnas, S., 1999, Instrumental crispness and crunchiness of roasted hazelnuts and correlations with sensory assessment. *Journal of Food Science*, 64, 1015–1019.

Saklar, S., Katnas, S., & Ungan, S. 2001. Determination of optimum hazelnut roasting conditions. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 271-281.

Shakerardekani, A., Karim, R., Mohd Ghazali, H. & Chin, N.L., 2011, Effect of roasting conditions on hardness, moisture content and colour of pistachio kernels. *Food Research International*, 18, 723–729.

Shieh, CJ. Chang, CY. & Chen, CS., 2004, improving the texture of fried food. In: Kilcast D (Ed) Texture in food, vol. 2, solid foods. CRC Press, *New York*, Chapter 21.

Tenenhaus, M., Pages, J., Ambroisine, L. & Guinot, C., 2005, PLS methodology to study relationships between hedonic judgments and product characteristics. *Food Quality and Preference* , 16, 315-325.

Varela, P., Salvador, A, & Fisman, S., 2008. On the assessment of fracture in brittle foods: the case of roasted almonds. *Food Research International*, 41(5), 544–551.

Vincent, JFV. 2004, Application of fracture mechanics to the texture of food. Engineering Fail Anal, 11, 695–704.

Vollmannn, J. & Rajcan, I., 2010, *Oil Crops*, Springer London.

Wanlapa, A. & Jindal, VK. 2006, Instrumental and sensory evaluation of textural changes during roasting of cashew kernels. *Journal Texture Stud*, 37(3), 263–275

Yang, M., Zhou, Q., Liu, C., Zheng, C. & Huang, F., 2011, Changes on quality and volatile flavour compositions of salty peanut by microwave baking during storage. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 33(6), 609–615.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 540-552

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 552-540

The application of PLS regression to study the relationships between Sensory and texture characteristics

H. Bagheri[1], M. Kashaninejad[*2], M. Alami[3], A. M. Ziaiifar[4]

Received: 2016.05.08
Accepted: 2016.09.10

Introduction: Roasting is one of the processing steps involved in the nut industry to improve the flavor, color, texture and overall acceptability of the product. Ppeanut is a fruit or pod of the order Leguminosae and contains 47–50% oil, 25–30% protein and is an essential source of minerals and vitamins; thus it makes a substantial contribution to human nutrition. Peanuts are readily acceptable as a cheap protein source and popular snack item that can be eaten alone or combined with other foods. Recently, peanuts have gained much attention as functional food and roasted peanuts is one of the most popular snack foods, in which roasting is a key step in the process and directly impacts the quality (crispness, taste, and flavor) and shelf-life of the final product. Understanding of the roasting process is of interest because roasting is a critical processing step not only for peanuts, but many other food products such as coffee, cocoa, grains and other tree nuts. Roasting is a process to develop color, flavor and textural characteristics of product through chemical reactions, therefore proper roasting is critical to flavor and texture development as well as nutritional content of the final product.

Materials and methods: In this study, dried Goli peanuts were supplied from a local market in Minodasht, Iran in 2015 and stored at 4°C until processing. The average moisture content of peanut kernels was measured as 5.1 % (d.b.). Kernels were sorted manually to get the uniform sizes for roasting. 100 g peanut kernels were soaked in 500 ml of 25% salt solution for 30 min. After soaking, the salt solution was drained using a strainer and the excess water was removed by a cloth filter. After soaking, the moisture content of soaked peanut kernels increased to 8.27 % (d.b.). For roasting, three temperatures (140, 160 and 180°C) and three times (10, 20 and 30 min) and constant air velocity (1 m/s) were applied. Roasting was performed in a hot air roaster equipped with a controller to adjust the roasting temperature. After roasting, the whole kernels were allowed to cool at room temperature (23 ± 2°C). Roasting process was performed in 3 replications. Instrumental texture measurements (Uniaxial compression test) were carried out at room temperature using a TA-XT Plus Texture Analyzer using cylinder probe (diameter 25 mm) on peanut halves. The textural parameters of peanut halves were expressed as fracture force (initial peak or first fracture force (N)), hardness (highest peak compression force (N)), initial tangent modulus or apparent modulus of elasticity that shows sample rigidity in the linear part of the force-deformation curve (N/m) and compressive energy or area under the curve for the compression that is the work (N×m) required to attain deformation, indicative of internal strength of bonds within product. Sensory attributes including colour, texture, flavor, odour, total acceptance and final acceptance were assessed according to a five-grade hedonic scale (5 points – the best, 1 point – the worst). A completely randomized factorial design was used to evaluate the results and analysis of variance (ANOVA) was carried out to compare the mean values. All significant differences were reported at $P \leq 0.05$ levels. Minitab statistical software (Minitab Release 16, Minitab Inc., USA) was used for all statistical analyses in the present research. However, MSTATC (Version 2.10, Michigan State University) was used to determine significant differences.

Results & discussion: Roasting is one of the most important steps in peanuts processing that leads to the development of the desired aroma, taste, texture and color of the final product. The results showed that increasing the roasting temperature and time decreased the fracture force (75.19–45.92 N), instrumental hardness (81.74–48.90 N), apparent modulus of elasticity (7.508-5.446 N/s), compressive energy (469.0–199.1 N.s) and improved the sensory characteristics of peanut kernels. During roasting process, moisture content of peanut kernels decreased and they became more crumble and fragile which causes to break easier and moisture reduction helps to create a desirable crisp texture. The results of the consumer test showed that the roasted peanut kernels have good acceptability for color (4.50), texture (4.15), flavor (3.89), odor (4.05), total acceptance and final acceptance (3.97) on roasting temperature and time (160°C and 30 min). The results obtained for VIP

1, 2, 3 and 4. Ph.D. Student, Professor, Associate Professor and Assistant Professor, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan,
(Corresponding author's Email: kashani@gau.ac.ir)

coefficients (standard coefficients) in PLS regression for fracture force, instrumental hardness; apparent modulus of elasticity and compressive energy variables indicated that apparent modulus of elasticity could be able to predict the individual sensory attribute of peanut kernels except color. PLS results showed that apparent modulus of elasticity could successfully predict quality sensory characteristics of peanut kernels. Thus, instrumental apparent modulus of elasticity could be replaced with sensory analysis for evaluation the quality of peanut kernels.

Keywords: Roasting, Sensory evaluation, PLS regression, Peanut kernels

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 553-565

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 565-553

ارزیابی خصوصیات ریزکپسول‌های چند لایه حاوی دی استیل بر پایه جذب الکترواستاتیک فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا و پکتین

الهام انصاری‌فر[1]- فخری شهیدی[2*]- محبت محبی[2]- آرش کوچکی[3]- نوید رمضانیان[4]

تاریخ دریافت: 1395/02/12
تاریخ پذیرش: 1395/05/16

چکیده

در این پژوهش ریزکپسول‌های جدید با جذب لایه به لایه پلی‌الکترولیت‌هایی از فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا و پکتین با درجه متوکسیل بالا آماده شد. ویژگی‌های ظاهری فیبریل‌ها با AFM وTEM، خصوصیات ریزکپسول‌ها، اندازه و یکنواختی، زتا پتانسیل، مورفولوژی و کینتیک رهایش دی استیل بررسی شد. نتایج نشان دادند که فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا، ضخامتی بین 1 تا 10 نانومتر دارند و ساختارشان بسیار منشعب است. تصاویر SEM نشان دادند که ریزکپسول‌ها کروی بوده و با افزایش تعداد لایه‌های دیواره، ضخامت آن افزایش یافته که منجر به بهبود استحکام کپسول شده است. با افزایش تعداد لایه‌ها شیب پروفایل رهایش دی استیل کاهش یافت و حداکثر زمان رهایش دی استیل به‌عنوان تابعی از تعداد لایه‌ها به‌طور یکنواخت افزایش یافت که می‌توان این گونه استنباط کرد که با افزودن تعداد لایه‌های دیواره ریزکپسول، رهایش ماده ریزپوشانی شده را می‌توان به تاخیر انداخت. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که مدل کینتیکی ریگر-پپاس از نظر ریاضی بهترین توصیف را برای رهایش دی استیل از ریزکپسول‌ها فراهم آورد، به‌گونه‌ای که ضریب همبستگی حاصل در تمامی برازش‌ها با این مدل بالای 0/94 بود. این روش تولید ریزکپسول‌ها، بسیار آسان و به‌راحتی قابلیت تولید در مقیاس صنعتی دارد.

واژه‌های کلیدی: ریزکپسول‌های چندلایه، کنترل رهایش، فیبریل ایزوله پروتئین سویا، پکتین، دی استیل

مقدمه

امروزه بررسی پایداری عطر و طعم در مواد غذایی مختلف به سبب ارتباط مستقیم آن با کیفیت و قابلیت پذیرش غذا توسط مصرف‌کننده رو به افزایش می‌باشد (Bucking *et al*., 2003). برای کاهش تخریب یا از دست دادن مواد عطری و طعمی طی نگهداری و فرآوری و نیز کنترل آزادسازی آنها طی مصرف، ریزپوشانی این مواد قبل از افزودن آنها به مواد غذایی یکی از روش های مطلوب می باشد (Madene *et al*., 2006). ریزپوشانی مواد معطر این امکان را فراهم می‌آورد تا ضمن حفظ و نگهداری ماده معطر، امکان آزادسازی آن در زمان، مکان یا محصول خاص فراهم شود. طراحی منطقی سیستم ریزپوشانی نیازمند داشتن اطلاعات جامع فیزیکوشیمیایی و فهم مکانیسمی که طی آن ماده معطر ریزپوشانی شده و آزاد شود، می‌باشد (Gunning *et al*.,1999).

ریزپوشانی فرآیند به دام انداختن ترکیبات فعال درون ماده حامل[5] است که به‌عنوان وسیله‌ای مفید برای بهبود تحویل این ترکیبات فعال مطرح می‌باشد (Nedovic *et al*., 2011). از محدودیت‌های قابل توجهی که مواد تشکیل‌دهنده کپسول در صنعت غذا دارند، می‌توان به قابلیت خوراکی، ارزان قیمت بودن، در دسترس بودن برای واحدهای تولیدکننده اشاره کرد. همچنین فرایند ریزپوشانی باید روندی آسان، راحت، ارزان و قابلیت برای تولید مقادیر زیاد صنعت را داشته باشد (Sagis *et al*., 2008). اگرچه روش‌های متعددی برای ریزپوشانی وجود دارد، اما بسیاری از آنها به سبب دشواری، عدم مقاومت مکانیکی کپسول حاصل و هزینه بالای تولید، کاربرد صنعتی چندانی ندارد. در این میان روشی که دچر و همکاران در سال 1991 بکار بردند جذب سطحی لایه به لایه الکترواستاتیک[6] نام دارد که در صنعت می‌تواند به‌کار رود (Decher *et al*., 1992). LBL یک تکنیک محبوب برای تولید کپسول‌های پلی‌الکترولیت است. این امر

1، 2 و 3- به‌ترتیب دانشجوی دکترا، استاد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
4- استادیار، گروه شیمی پلیمر، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد.
(* - نویسنده مسئول: Email: fshahidi@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.55558

5 Carrier material
6 Electrostatic layer-by-layer (LbL) adsorption

می‌تواند به دلیل توانایی این روش در ایجاد پوسته‌های کپسول مناسب از طریق یک فرایند جذب ساده، ارزان و قابل کنترل (Peyratout and Dahne, 2004) همراه با قابلیت تولید کپسول‌هایی در اندازه‌های مختلف، در محدوده نانومتر تا مقیاس میکرومتر باشد (Sagis *et al*., 2008; Yow and Routh, 2006). استحکام مکانیکی و نفوذپذیری کپسول‌ها می‌تواند با تغییر تعداد لایه‌های دیواره یا تغییر خصوصیات مواد ریزپوشانی شده کنترل شود (Sagis *et al*., 2008). در این تکنولوژی، دیواره‌های پلی الکترولیت با تجمع موادی با بار مخالف (پلی‌آنیون‌ها و پلی‌کاتیون‌ها) که به‌وسیله پیوندهای الکترواستاتیک ایجاد می‌شود، تشکیل می‌گردد (Ai, Jones and Lvov, 2003; Decher, 2003; McClements, 2005). ریزکپسول‌های چند لایه که با این روش آماده می‌شوند، پتانسیل کاربردی بسیاری مانند کنترل رهایش مواد حامل را دارند (Mansur, Dejugnat and Sukhorukov, 2006; Wang and *et al*, 2008).

پروتئین‌های غذایی خصوصیت امولسیون‌کنندگی و تشکیل فیلم بسیار عالی داشته، بارهایشان بوسیله‌ی تغییر pH محلول قابل تنظیم می‌باشد که شرایط را برای ریزپوشانی بر پایه تجمع الکترواستاتیک لایه به لایه ایجاد می‌کنند. پروتئین سویا از مهم‌ترین منابع پروتئینی تجاری است که استفاده از آن به دلیل ویژگی‌های عملکردی مطلوب در سیستم‌های غذایی، سهل‌الوصول بودن، هزینه پایین و ارزش تغذیه‌ای بالا گسترش یافته است. ایزوله پروتئین سویا[1] خالص‌ترین فرم پروتئینی از محصولات سویا با ارزش بیولوژیکی و خصوصیات عملکردی بالایی می‌باشد. به‌واسطه ترکیبات شیمیایی، خواص آمفی‌فیلیک، وزن مولکولی بالا و انعطاف‌پذیری زنجیره‌های مولکولی از پروتئین سویا برای پایداری امولسیون استفاده می‌کنند (Nishinari *et al*., 2014; Nesterenko *et al*., 2012).

پکتین یک پلی‌ساکارید محلول است که به‌طور گسترده در تولید مواد غذایی استفاده شده و ادعا می‌شود که فواید سلامتی بخش زیادی دارد (Sriamornsak, 2003). پکتین با درجه متوکسیل بالا[2] در محلول‌های اسیدی ملایم به دلیل حضور گروه‌های کربوکسیلیک یونیزه در طول ستون اصلی‌اش دارای بار منفی است (Morris *et al*., 1980).

هدف از انجام این تحقیق تولید و ارزیابی ویژگی‌های ریزکپسول‌های جدید و چند لایه از فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا و پکتین و بررسی رهایش دی استیل ریزپوشانی شده در این ریزکپسول‌ها می‌باشد. نتایج این تحقیق می‌تواند برای پیش‌بینی رهایش عطر و طعم از ریزکپسول‌ها مختلف و نیز تاثیر شرایط محیطی بر آنها مورد استفاده قرار گیرد.

1 Soy protein isolated (SPI)
2 High methoxyl pectin (HMP)

مواد و روش‌ها

ایزوله پروتئین سویا (SPI) (شرکت به پارس، حاوی94 درصد پروتئین)، پکتین با درجه متوکسیل بالا (HMP) (Hi-Methoxyl, kosher certified. CAS: 9000-69-5, Sciencelab, InC) (69/8 درصد درجه متوکسیله شده)، ۲،۳ بوتاندیون[3] (دی استیل)- شرکت سیگما (Sigma Number: B85307)، روغن آفتابگردان با نام تجاری فامیلا از بازار محلی تهیه شد. ارتو فنیل دی آمین[4]- شرکت سیگما (Sigma Number:23938)، بیکربنات سدیم ($NaHCO_3$)- شرکت سیگما (Sigma Number: 71630)، کلرید سدیم (NaCl)- شرکت سیگما (Sigma Number: S7653)، اسید هیدروکلریدریک 37درصد- شرکت سیگما (Sigma Number: 84415)، فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم (KH_2PO_4)- شرکت مرک (Code:105108)، فسفات هیدروژن دی‌پتاسیم (K_2HPO_4)- شرکت مرک (Code:105109)، آنزیم آلفا آمیلاز- شرکت مرک (Code:141783) تهیه شدند.

آماده‌سازی فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا[5]

فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا، به روش Akkermans و همکاران (2008) با مقداری تغییرات تولید شدند. مطابق این روش، محلول 6 درصد وزنی/ حجمی ایزوله پروتئین سویا (SPI) آماده شده و با اسیدکلریدریک یک مولار به pH=2 رسید. برای جذب حداکثر آب توسط پروتئین، دیسپرسیون به مدت 24 ساعت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد محلول همزده شد. سپس سانتریفوژ 22600 ×g در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، به مدت 30 دقیقه انجام شد تا مواد غیرمحلول جدا شوند. سپس محلول در دمای 85 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت حرارت داده شد سپس به سرعت با حمام یخ سرد شد و با خشک‌کن انجمادی (Christ Alpha LD، آلمان) تبدیل به پودر شد.

ارزیابی فیبریل‌ها با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)

مورفولوژی فیبریل‌های SPI با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM, LEO 912 ab, Zeiss Germany) و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM, Ara research, model: Full plus, Iran) بررسی شدند.

آماده‌سازی سوسپانسیون

محلول 1 درصد HMP و 0/5 درصد FSPI (فیبریل‌ها تهیه شده

3 2,3-Butanedione
4 O-phenylenediamine (OPDA)
5 Fibril soy protein isolated

مطابق روش بالا) تهیه کرده شد. pH سوسپانسیون‌ها با افزودن محلول 0/1 نرمال اسید کلریدریک (HCL) و هیدروکسید سدیم (NaOH) در نقطه 3/5 تنظیم شد و به مدت 24 ساعت همزده شدند تا کاملا هیدراته شوند. برای تهیه تمام دیسپرسیون‌های فوق از آب دیونیزه استفاده شد.

تهیه امولسیون

تهیه امولسیون به روش Humblet-Hua و همکاران (2011) با اندکی تغییرات انجام شد: به‌طور خلاصه، در ابتدا 0/05 گرم از دی استیل (2و3-بوتانیدیون) با 1/95 گرم روغن در دمای اتاق، توسط هم‌زن (Digital electrical stirrer-Teb azma، ایران) با سرعت 100 دور در دقیقه به مدت 1 دقیقه مخلوط شد. سپس، امولسیون روغن در آب، حاوی 2 درصد (وزنی/ حجمی) از مخلوط بالا در محلول 0/5 درصد (وزنی/ حجمی) فیبریل‌های پروتئین ایزوله سویا در طی دو مرحله تهیه شد. در مرحله اول، تمامی اجزاء توسط همگن‌ساز اولتراتوراکس (IKA -T50، آلمان) با سرعت 13500 دور در دقیقه به مدت 90 ثانیه مخلوط شدند. در مرحله بعدی، برای همگن‌سازی ثانویه از یک دستگاه مولد امواج فراصوت (مدل VCX750، شرکت Sonics& Material، آمریکا) با توان اسمی 750 وات فرکانس 20 کیلوهرتز بکار برده شد. مدت زمان اعمال امواج فراصوت 5 دقیقه به‌صورت مداوم و در حداکثر توان اسمی دستگاه برنامه‌ریزی گردید. دمای نمونه‌ها در طول فرآیند، با چرخش مداوم آب سرد در اطراف ظرف حاوی نمونه در محدوده 20 درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته شد. جداسازی سرم از ذرات امولسیون توسط سانتریفوژ کردن امولسیون در دو مرحله: مرحله اول g× 50 به مدت 45 دقیقه و مرحله دوم g× 750 به مدت 1 دقیقه در دمای 20 درجه سانتی‌گراد انجام شد، و در نهایت ذرات امولسیون از سرم جدا شدند. 2 درصد(وزنی/ حجمی) از ذرات امولسیون حاصل به محلول بعدی، پکتین با درجه متوکسیل بالا (لایه زوج) یا محلول فیبریل‌های پروتئین سویا باشد (لایه فرد) اضافه شد. برای افزودن هر لایه به دیواره ذرات امولسیون، روش فوق تکرار شد (شکل 1).

تهیه ریزکپسول‌ها

جهت تهیه ریزکپسول‌ها از خشک‌کن افشانه‌ای (Mini Spray Dryer، Buchi، سوئیس) استفاده شد. شرایط خشک کرن عبارت بودند از: دمای هوای ورودی 10± 180 درجه سانتی‌گراد، دمای هوای خروجی 10± 90 درجه سانتی‌گراد و سرعت پمپ خوراک‌دهی 25 میلی‌لیتر در دقیقه بود. جهت جلوگیری از جذب رطوبت، پودرهای تهیه شده بلافاصله به قوطی پلاستیکی دربدار منتقل و تا انجام آزمایش‌های بعدی در داخل دسیکاتور نگهداری شدند.

اندازه ذرات

متوسط قطر و توزیع اندازه قطرات امولسیون به کمک دستگاه انکسار نور لیزر (Fritsch Analysette 22, German) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. به این ترتیب که نمونه امولسیون تا رسیدن به محدوده انسداد نوری قابل قبول توسط دستگاه، قطره قطره به درون مخزن آب آن اضافه شد و به‌طور مداوم مخلوط گردید تا از یکنواختی آن اطمینان حاصل شود. پس از آن نمونه به محفظه عبور نور لیزر منتقل و توزیع اندازه ذرات از روی میزان پراکنش نور و بر مبنای مدل لورنزمی و تئوری فرانهوفر تعیین گردید.

تعیین بار الکتریکی ذرات

اندازه‌گیری بار الکتریکی ذرات موجود در امولسیون با استفاده از دستگاه زتاسایزر (Nano-ZS, Malvern, England) و بر مبنای سنجش جابجایی الکتروفورتیک ذرات انجام شد. تمامی نمونه‌ها بلافاصله پس از تهیه با 4 تکرار اندازه‌گیری شدند و سپس میانگین آن‌ها گزارش گردید.

عکس‌برداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

برای مشاهده ریزساختمان ریزکپسول‌های تهیه شده، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (S -360، Axford، انگلیس) استفاده شد. مقدار کمی از نمونه به کمک چسب نقره بر روی یک استاب آلومینیومی گذاشته شد و سپس توسط یک لایه نازک از جنس طلا در دستگاه پوشش‌دهنده به مدت 6 دقیقه جهت رسانا شدن قرار گرفتند. نمونه‌ها به اتاقک تحت خلأ منتقل گردیدند. شعاعی از الکترون‌های پر شتاب با ولتاژ 20 کیلووات به نمونه‌ها تابیده شد و تصویر بر اساس شعاع الکترونی برگشتی از نمونه‌ها به‌دست آمد (Arsianti *et al*., 2011).

راندمان ریزپوشانی

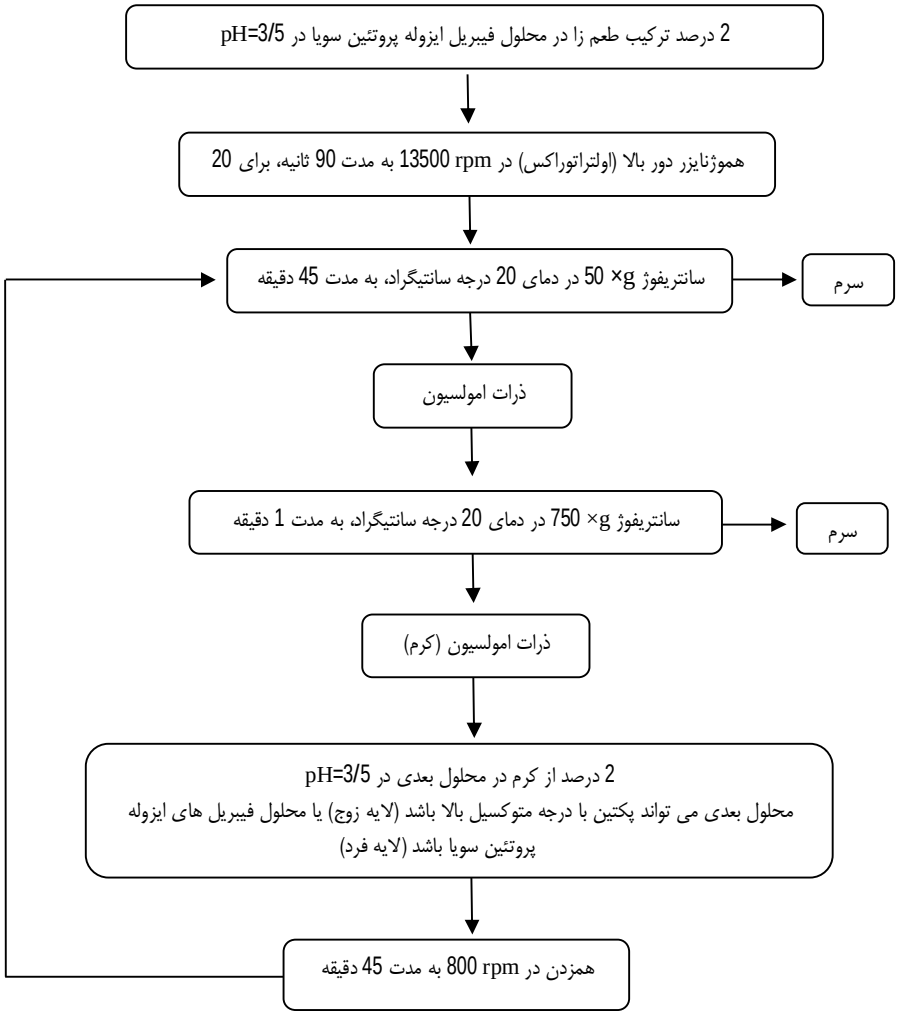
جهت محاسبه راندمان ریزپوشانی خارج قسمت مقدار دی استیل در پودر به مقدار آن در امولسیون اولیه مطابق رابطه زیر محاسبه شد:

(1) 100× (گرم دی استیل در امولسیون اولیه/ گرم دی استیل در پودر) = راندمان ریزپوشانی

بررسی کینتیک رهایش و برازش دادها

برای بررسی نحوه رهایش دی استیل ریزپوشانی شده از ریزکپسول های چند لایه تولیدی، رهایش این ریزکپسول‌ها در شرایط شبیه‌سازی شده دهانی در حضور بزاق مصنوعی در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و در سه نیروی برشی صفر، 50 و 100 معکوس ثانیه صورت گرفت. بزاق مورد استفاده در این مدل با استفاده از روش روث

و کالمس تهیه شد (Roth and Calmes, 1981). برای اعمال دما و تنش برشی از دستگاه شبیه‌ساز دهان که توسط محبّی و همکاران (1393) طراحی و ساخته شد، استفاده گردید. تنظیم pH با استفاده از محلول‌های 0/1 نرمال اسید کلریدریک و هیدروکسید سدیم انجام شد. نسبت بزاق مصرفی به ریزکپسول نیز براساس پژوهش Zandi و همکاران (2013) تعیین گردید، بدین صورت که ریزکپسول‌های پراکنده شده در بزاق به نسبت 4 به 1 مخلوط و رهایش بررسی شد. برای رسم پروفایل رهایش دی استیل، در فواصل زمانی یک دقیقه با استفاده از سرنگ مقدار 1 میلی‌لیتر از نمونه برداشته شده و از کاغذ واتمن شماره 1، عبور داده شد تا ریزکپسول‌ها از محیط جدا گردند. این مقدار نمونه با 0/50 میلی‌لیتر از شناساگر ارتوفنیلن دی آمین (1 درصد در اسید هیدروکلریدریک 4 مولار) ترکیب و 20 دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد، پس از این زمان 0/2 میلی‌لیتر اسید کلریدریک 4 مولار به محلول اضافه و به کوت سیلیکایی دستگاه اسپکتروفتومتری (WPA lightwave s2000 uv/vis) منتقل و میزان جذب آن در طول موج 335 نانومتر اندازه‌گیری شد (Rodrigues and Barros, 1997).



شکل 1- فلوچارت فرایند ریزپوشانی طعم به روش Humblet-Hua و همکاران (2011) با اندکی تغییرات.

مدل‌سازی

برای بررسی رهایش دی‌استیل از ریزکپسول‌های چند لایه و همچنین آنالیز کینتیک رهایش آن، از مدل‌های مختلفی شامل معادله درجه صفر، درجه اول[1]، هیگوچی[2] و ریگتر- پپاس[3] استفاده شد

1 First order model
2 Higuchi

(Dash *et al*., 2010).

$$C = Kt \quad (2)$$

$$C = [1-\exp(-Kt)]\times 100 \quad (3)$$

$$C = Kt^{0.5} \quad (4)$$

$$C = Kt^{n} \quad (5)$$

در این روابط C غلظت ماده طعمی آزاد شده در زمان t، K ثابت کینتیکی و n توصیف کننده فرآیند رهایش است. پارامتر آخر به‌منظور مشخص نمودن مکانیسم‌های مختلف رهایش استفاده می‌شود. در صورتی که میزان پارامتر n کمتر از 0/45 باشد رهایش بر اساس مکانیسم نفوذ فیک کنترل می‌شود. اگر بزرگتر از 0/89 باشد بر اساس مکانیسم انحلال و اگر بین این دو مقدار باشد هر دو مکانیسم غالب می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای انجام آنالیز آماری داده‌ها و بررسی اطلاعات بدست آمده از آزمایش‌های مختلف، از طرح فاکتوریل استفاده شد. کلیه آزمون‌ها حداقل در دو تکرار انجام شده، سپس میانگین و انحراف معیار آنها بدست آمد. آنالیز واریانس[4] برای بررسی معنی‌داری اختلافات در سطح $p< 0/05$ بکار گرفته شد و به‌منظور تعیین اختلاف بین میانگین اعداد، پس از آنالیز واریانس از آزمون دانکن استفاده گردید. تمام مراحل تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه 21) صورت پذیرفت. برازش داده‌ها با استفاده از معادلات ارائه شده به کمک نرم‌افزار متلب (نسخه R2014) صورت گرفت و بهترین مدل براساس اندازه‌گیری ضریب همبستگی[5] انتخاب و پیشنهاد گردید.

نتایج و بحث

میکروسکوپ الکترونی روبشی و میکروسکوپ نیروی اتمی

فیبریل‌های پروتئینی تجمعات خطی شکلی هستند که با حرارت دادن محلول پروتئینی برای یک مدت طولانی در pH و قدرت یونی پایین تشکیل می‌شوند (Bolder *et al*., 2006). تصاویر بدست آمده از TEM و AFM نشان دادندکه فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا (SPI)، ضخامتی بین 1 تا 10 نانومتر دارند و ساختارشان بسیار منشعب است (شکل 1). اگر چه توانایی تولید فیبریل، یک خصوصیت عمومی برای پروتئین محسوب می‌شود ولی ویژگی‌های ظاهری و عملکردی هر فیبریل مختص منبع پروتئینی تهیه شده از آن محسوب می‌گردد (Sagis *et al*., 2004). به‌عنوان مثال فیبریل‌های بتالاکتوگلوبین معمولا بلند، طول 10 میکرومتر ضخامت 4 نانومتر (Veerman *et al*., 2002)، فیبریل‌های حاصل از آلبومین سرم گاوی کوتاه تر و طول 100- 300 نانومتر (Veerman *et al*., 2003) و فیبریل‌های گلیسین سویا طول یک میکرومتر، ضخامت چند نانومتر و دارای شاخه‌های جانبی فراوان هستند (Akkermans *et al*., 2008).

اندازه ذرات

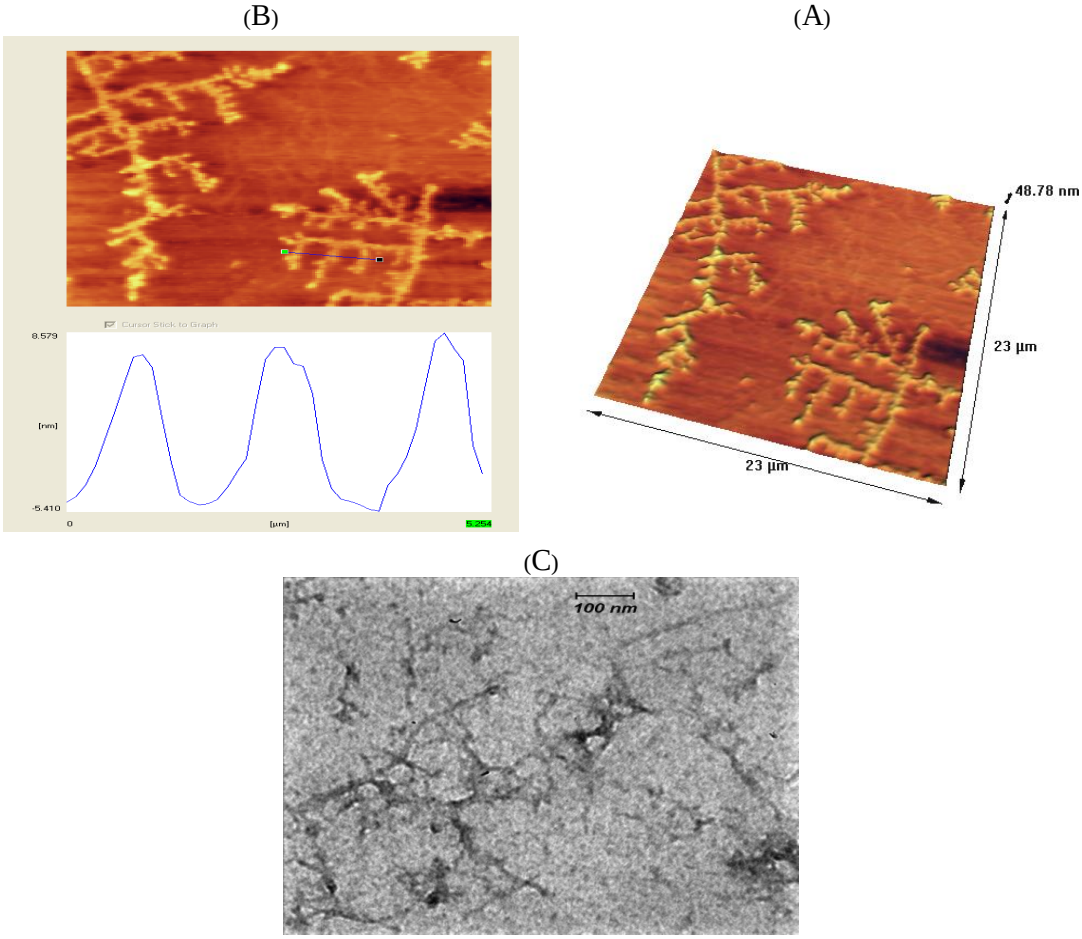
اندازه ذرات فاز پراکنده از مهمترین ویژگی‌های کیفی امولسیون‌ها می‌باشد. بررسی روند تغییرات اندازه قطرات با توجه به شکل 2 نشان داد که $D_{(3, 2)}$ این ذرات بین 5/64 و 7/01 میکرومتر بود و افزایش تعداد لایه‌ها در اندازه ذرات نمونه تغییر معنی‌دار و قابل ملاحظه‌ای نداشت ($p>0/05$). Humblet-Hua و همکاران (2011) و Sagis و همکاران (2008) به نتایج مشابهی دست یافتند و عنوان کردند که این سیستم توانایی تولید ریزکپسول‌هایی با تعداد لایه‌های مختلف با متوسط اندازه ذرات یکسان، که مشکلات مرسوم در مطالعات قبلی از جمله تشکیل لخته و رسوب را رفع کرده است. بررسی منحنی توزیع اندازه ذرات امولسیون‌ها نشان داد که تمام نمونه‌ها به‌صورت تک کوهانه بوده و توزیع نرمال داشتند (شکل 4). این مساله بیانگر دو نکته حائز اهمیت می‌باشد: اولا انرژی ورودی به سامانه (انرژی صوت) به اندازه کافی بالا بوده تا فاز پراکنده را به‌طور یکنواخت خرد کرده، به قطرات کوچک بشکند، ثانیا غلظت امولسیفایر و پایدارکننده نیز به حدی بود تا قطرات را بلافاصله بعد از تشکیل به‌طور کامل بپوشاند و از امتزاج و درهم آمیختن مجدد آنها جلوگیری نماید در غیر این صورت منحنی توزیع اندازه ذرات غیرنرمال و چند کوهانه می‌بود.

پتانسیل زتا

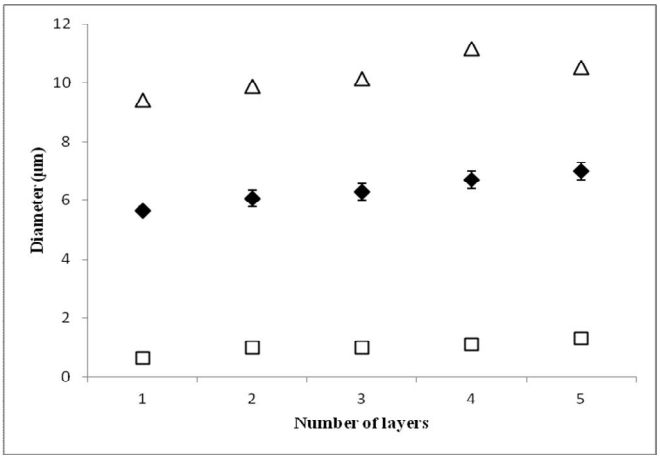
پتانسیل زتا یکی از فاکتورهای مهم در پایداری ذرات ریزپوشانی شده است. هر اندازه پتانسیل زتا بیشتر، بارسطحی ذرات بیشتر و در نتیجه دافعه الکترواستاتیک بالاتر و میزان چسبندگی ذرات کمتر خواهد بود (Fathi *et al*., 2013). همان طورکه در شکل (4) مشاهده می شود توزیع زتا پتانسیل ذرات از حدود 30 (+) (لایه بیرونی از جنس فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا با شماره فرد زیرا پروتئین در زیر نقطه ایزوالکتریک‌اش قرار دارد) تا تقریبا 20 (-) (لایه بیرونی از جنس پکتین با لایه زوج) می‌باشد. که این مورد، تاییدکننده جذب لایه به لایه دیواره‌ها با بار مخالف، براساس واکنش‌های الکترواستاتیک می‌باشد. در این روش با جذب لایه به لایه الکترواستاتیک ذرات کلوئیدی با بار معکوس، کپسول‌هایی تشکیل می‌شوند که بار لایه نهایی بیرونی تعیین‌کننده بار خالص سطحی می‌باشد (McClements *et al*., 2005; Decher *et al*., 2003).

---

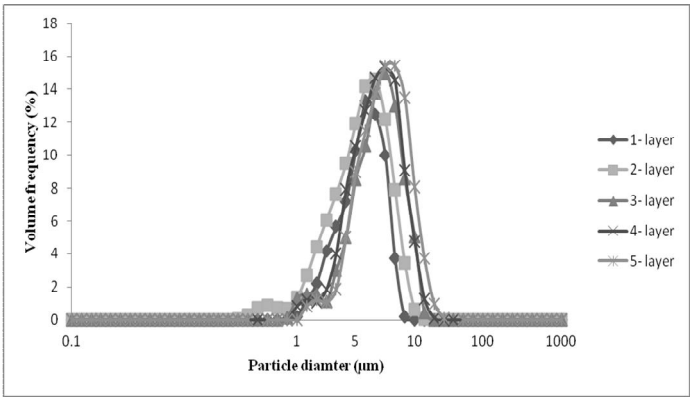
3 Rigter- peppas
4 ANOVA
5 Correlation coefficient



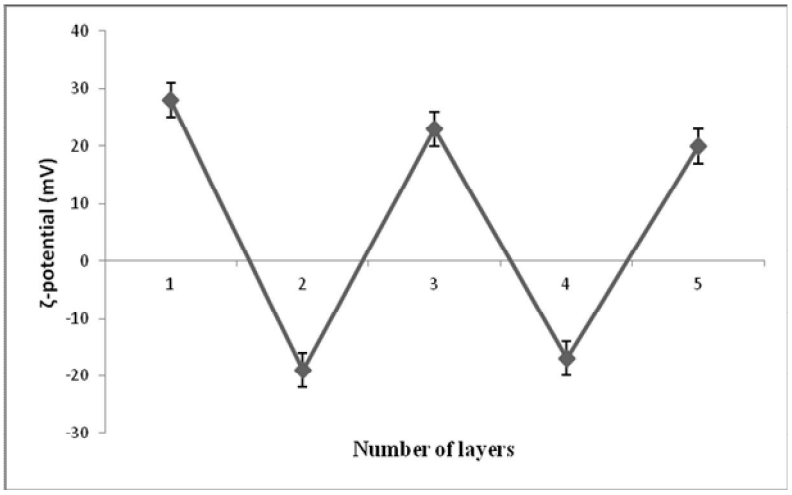
شکل 2- تصاویر سه‌بعدی و دو بعدی میکروسکوپ نیروی اتمی به ترتیب (A) و(B)، تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (C) فیبریل‌های ایزوله پروتئین سویا.



شکل3- اندازه ذرات ریزکپسول‌ها بعد از هر بار افزودن لایه به دیواره. (◆) D_{32} میانگین قطر اندازه ذرات. (□) d (1.0) و (△) d (0.9) قطر ذرات به ترتیب 10 و 90 درصد حجم تجمعی می‌باشند.



شکل 4- منحنی توزیع اندازه ذرات امولسیون‌های تازه تهیه شده با تعداد لایه‌های مختلف



شکل 5- پتانسیل زتا ریزکپسول‌ها بعد از هر بار افزودن لایه به دیواره.

میکروسکوپ الکترونی روبشی

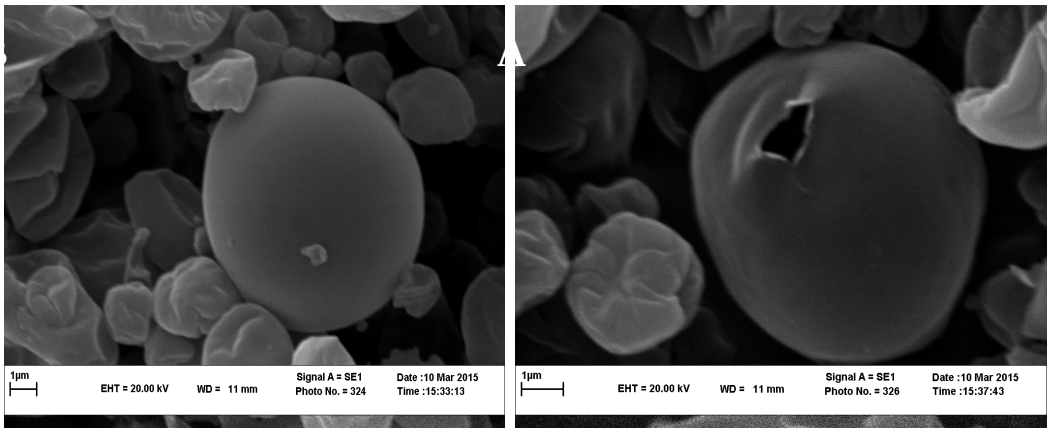
برای بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی نظیر اندازه و شکل ریزکپسول‌های تهیه شده با امولسیون‌های مختلف، از تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) استفاده شد. تصاویر SEM پودرهای ریزپوشانی شده با تعداد لایه‌های مختلف در شکل (5) آورده شده است. همانطورکه در شکل A (مربوط به ریزکپسول با دیواره تک لایه) مشاهده می‌شود دیواره دارای حفره و ترک خوردگی است که علت این امر را می‌توان به خروج سریع رطوبت در مراحل اولیه خشک کردن نسبت داد و دیواره به قدر کافی مستحکم نبوده تا تنش‌های ناشی از خروج سریع رطوبت را تحمل کند، در نتیجه ریزکپسول دچار فروپاشی و ترک خوردگی و ایجاد حفره می‌شود و یا مواد دیواره، به قدر کافی در سوسپانسیون موجود نبوده تا پوشش کاملی اطراف مواد هسته تشکیل گردد.

در حالی که ریزکپسول‌های شکل B (ریزکپسول با دیواره پنج لایه) سطحی صاف، بدون ترک خوردگی و فرورفتگی داشتند که این امر را می‌توان به استحکام دیواره ناشی از افزایش تعداد لایه‌ها نسبت داد. گزارش Humblet-Hua و همکاران (2011) هم گواه این واقعیت است که ریزکپسول‌هایی با تعداد لایه کمتر تمایل به چروکیده شدن و ترک‌خوردگی بعد از خشک شدن دارند؛ در صورتی که ریزکپسول‌هایی با تعداد لایه بیشتر شکل کروی و ساختار دیواره را بهتر حفظ کرده‌اند. اندازه ذرات ریزکپسول به‌دست آمده به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری با اندازه‌های به‌دست آمده از طریق پراکنش نور پویا تطابق داشت و تاییدکننده این واقعیت بودند که با افزایش تعداد لایه‌های دیواره قطر ذرات افزایش معنی‌داری نمی‌کند.

رهایش

قابل ذکر است راندمان ریزپوشانی ریزکپسول‌های چهار و پنج لایه (تقریبا 58 درصد) نسبت به ریزکپسول‌های اول تا سه لایه (راندمان بین 32 تا 45 درصد) دارای بازده بیشتری هستند. این امر احتمالا به دلیل ساختمان کروی تحلیل رفته با تورفتگی و

شکستگی‌های بیشتری است که در ریزکپسول‌های اول تا سه لایه مشاهده می‌شود و سبب هدر رفتن بیشتر ترکیبات فرار و معطر می‌شود و در نتیجه میزان راندمان ریزپوشانی کمتری دارند. با افزایش تعداد لایه‌های دیواره راندمان ریزپوشانی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.



شکل 6- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (A) ریز کپسول تک لایه، (B) ریز کپسول پنج لایه

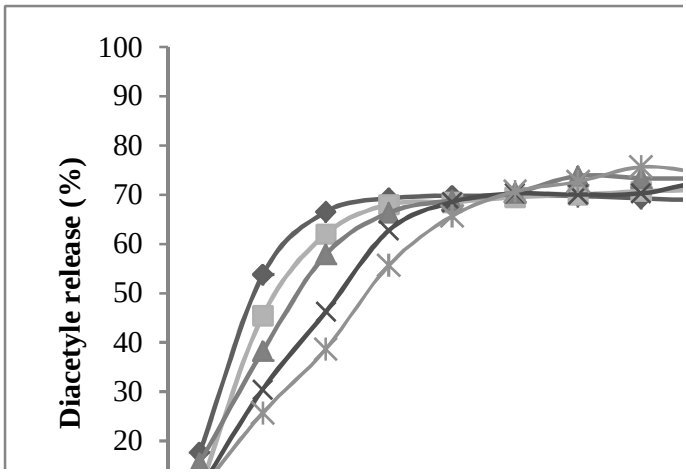
پروفایل رهایش دی‌استیل از ریزکپسول‌های یک تا پنج لایه به‌عنوان تابعی از زمان رهایش در شکل (5) نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش تعداد لایه‌ها شیب پروفایل رهایش دی‌استیل کاهش یافت و حداکثر زمان رهایش دی‌استیل به‌عنوان تابعی از تعداد لایه‌ها به‌طور یکنواخت افزایش یافت که می‌توان این‌گونه استنباط کرد که با افزودن تعداد لایه‌های دیواره ریزکپسول، رهایش ماده ریزپوشانی شده را می‌توان به تاخیر انداخت. از آنجایی که دو مکانیسم عمده آزادسازی طی فرایند رهایش از ریز کپسول‌های چند لایه رخ می‌دهد، این نتایج با گزارشات منتشر شده توسط سایر محققین انطباق کامل دارد (Jafari *et al*., 2008). اولین مکانیسم خروج ماده ریزپوشانی شده از میان حفرات و سوراخ‌های پوسته ریزکپسول و دومین آن، رهایش ماده ریزپوشانی شده با استفاده از مکانیسم نفوذ از میان پوسته ریزکپسول می‌باشد و رهایش سریع اولیه (که تحت عنوان رهایش انفجاری[6] شناخته می‌شود) به ویژگی‌های سطح و پوسته ریزکپسول‌ها بستگی دارد. از این رو شیب اولیه موجود در پروفایل رهایش ریزکپسول‌های یک لایه نسبت به پنج لایه بیشتر است. این امر احتمالاً به دلیل افزایش ضخامت پوسته و کاهش شکستگی‌ها و حفرات ریزکپسول پنج لایه و همچنین پوشش‌دهی منسجم‌تر اطراف دی‌استیل بوده که باعث کاهش سرعت انتشار آن از ریزکپسول‌های پنج لایه نسبت به یک لایه می‌شود. این نتایج ثابت می‌کند که خصوصیات رهایش و نفوذپذیری دیواره را می‌توان با تعداد لایه‌های دیواره کنترل کرد (Humblet-Hua *et al*., 2011).

شکل 6، پروفایل رهایش دی استیل از ریزکپسول‌های یک تا پنج لایه را به‌عنوان تابعی از تنش برشی محیط رهایش نشان می‌دهند. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که اعمال تنش برشی سبب افزایش سرعت رهایش می‌گردد. به نظر می‌رسد که اعمال تنش برشی همانند یک نیروی فشاری عمل کرده، خروج دی استیل را از منافذ ریزکپسولها افزایش می‌دهد. علاوه بر این طی اعمال تنش برشی برخی از ریزکپسول‌ها تخریب شده، این امر سبب افزایش میزان انتشار ماده ریزپوشانی شده به محیط می‌شود. نتایج مشابهی برای بررسی تأثیر فرآیند جویدن بر میزان سرعت رهایش عطر و طعم توسط برخی از پژوهشگران گزارش شده است. Zandi و همکاران (2013) و Van Ruth and Roozen (2000) گزارش نمودند که اعمال و افزایش فرایند جویدن شبیه‌سازی شده سبب افزایش سرعت رهایش عطر و طعم از ماتریکس کپسوله‌کننده می‌گردد.

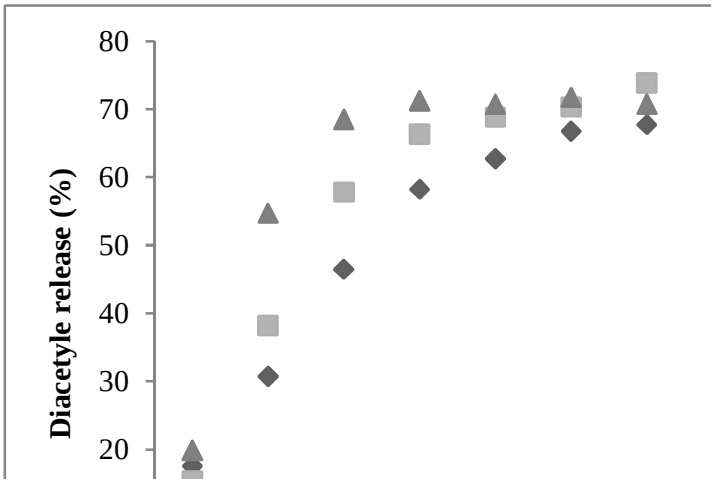
مدل‌سازی رهایش

به‌منظور بررسی مکانیسم رهایش دی‌استیل از ریزکپسول‌ها، مدل‌های کینتیکی مختلف به داده‌های تجربی رهایش برازش گردید. پارامترهای حاصل از برازش مدل‌های مورد استفاده بر روی داده‌های رهایش در جداول 1، خلاصه گردیده است. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که مدل کینتیکی ریگر-پپاس از نظر ریاضی بهترین توصیف را برای رهایش دی‌استیل از ریزکپسول‌ها فراهم آورد، به‌گونه‌ای که ضریب همبستگی حاصل در تمامی برازش‌ها با این مدل بالای 0/94 بود.

6 Burst-release phenomenon



شکل 7- پروفایل رهایش دی استیل از ریزکپسول‌های یک تا پنج لایه به‌عنوان تابعی از زمان رهایش



شکل 8- تاثیرتنش برش بر پروفایل رهایش دی استیل از ریزکپسول 3 لایه

جدول 1- پارامترهای مدل حاصل از برازش مدل‌های مختلف بر نتایج تجربی برای ریزکپسول‌های چند

ریزکپسول با تعداد لایه	ریگتر-پپاس			هیگوچی		درجه یک		درجه صفر	
	R^2	n	K	R^2	K	R^2	K	R^2	K
1	0/98	0/086	59/51	0/86	29/37	0/72	0/278	0/69	10/90
2	0/99	0/159	52/61	0/91	29/30	0/77	0/264	0/75	10/97
3	0/99	0/232	47/02	0/82	29/64	0/84	0/265	0/50	11/19
4	0/99	0/317	39/23	0/93	28/54	0/77	0/233	0/63	10/87
5	0/98	0/419	32/78	0/91	28/49	0/91	0/225	0/49	10/98

بدترین مدل، مدل درجه صفر بود که ضریب تبیین پایین این مدل نشان‌دهنده این است که رهایش دی‌استیل وابسته به غلظت می‌باشد. میزان پارامتر n برای ریزکپسول‌ها کمتر از 0/45 بود و نشان‌دهنده این است که رهایش بر اساس مکانیسم نفوذ فیک[7] رخ

7 Fickian diffusional

داده، این نوع رهایش به‌عنوان مکانیسم غالب در آزادسازی دی‌استیل از ریزکپسول‌ها می‌باشد (Chakeraborti *et al*., 2011).

همانطور که قبلاً نیز اشاره شد برای یافتن ضریب نفوذ از مدل برآمده از قانون فیک استفاده شد (معادله 5). مقدار ضریب نفوذ را برای فرآیند رهایش دی‌استیل از ریزکپسول‌های چند لایه تحت شرایط نیروی برشی مختلف در جدول 2 نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود هرچه تعداد لایه‌های دیواره ریزکپسول‌ها افزایش می‌یابد، ضریب نفوذ کمتری دارند که در نتیجه باعث کاهش سرعت رهایش دی‌استیل می‌شود.

این امر احتمالاً به دلیل افزایش ضخامت پوسته ریزکپسول چند لایه و همچنین پوشش کامل اطراف پوسته‌ها می‌باشد که باعث کاهش سرعت انتشار دی‌استیل از ریزکپسول‌های چند لایه می‌شود.

با توجه به جدول2، همانگونه که انتظار می‌رفت با اعمال و افزایش تنش برشی در محیط رهایش، ضریب نفوذ افزایش پیدا کرد. این افزایش احتمالاً به سبب تاثیر تنش برشی به‌عنوان یک نیروی فشاری باشد. علاوه بر این طی اعمال تنش برشی برخی از ریزکپسول‌ها تخریب شده و در نتیجه سبب افزایش میزان انتشار دی‌استیل به محیط نیز می‌شود. نتایج مشابهی برای تاثیر فرایند جویدن بر میزان سرعت رهایش عطر و طعم توسط برخی از محققان گزارش شده است. Van Ruth و Roozen (2000) و نیز Brown و Wilson (1996) گزارش نمودند که اعمال و افزایش فرایند جویدن شبیه‌سازی شده سبب افزایش سرعت رهایش عطر و طعم از ماتریکس کپسوله‌کننده می‌گردد.

جدول 2- ضریب نفوذپذیری برای رهایش دی استیل از ریزکپسول چند لایه در نیروی برشی مختلف.

تعداد لایه های دیواره ریزکپسول	نیروی برشی (معکوس ثانیه)	یک لایه	دو لایه	سه لایه	چهار لایه	پنج لایه
ضریب نفوذپذیری	0	$0/206\times10^{-13}$	$0/156\times10^{-13}$	$0/098\times10^{-13}$	$0/047\times10^{-13}$	$0/012\times10^{-13}$
	50	$2/260\times10^{-13}$	$2/249\times10^{-13}$	$1/931\times10^{-13}$	$1/741\times10^{-13}$	$1/308\times10^{-13}$
	100	$6/451\times10^{-13}$	$5/861\times10^{-13}$	$5/352\times10^{-13}$	$4/854\times10^{-13}$	$4/123\times10^{-13}$

نتیجه‌گیری

این پژوهش به‌منظور ارائه روشی آسان و با قابلیت اجرایی در مقیاس صنعتی، برای تولید ریزکپسول‌های جدید انجام شد. ریزکپسول‌ها بوسیله تکنیک لایه به لایه از مواد خوراکی و ارزان قیمت فیبریل ایزوله پروتئین سویا و پکتین تولید شد. نتایج نشان داد این سیستم توانایی تولید ریزکپسول‌هایی با تعداد لایه‌های مختلف ولی متوسط اندازه ذرات یکسان را دارد، که مشکلات مرسوم در مطالعات قبلی از جمله تشکیل لخته و رسوب را رفع کرده است. با افزایش تعداد لایه‌ها شیب پروفایل رهایش دی‌استیل کاهش یافت. سرعت رهایش دی‌استیل از ریزکپسول‌های چندلایه کمتر از ریزکپسول‌ها یک لایه می‌باشد که این امر به دلیل پوشش کامل اطراف پوسته‌ها و افزایش ضخامت پوسته ریزکپسول چندلایه می‌باشد که باعث کاهش سرعت انتشار دی‌استیل از ریزکپسول‌های چندلایه می‌شود. به‌منظور بررسی مکانیسم رهایش دی‌استیل از ریزکپسول‌های چند لایه، مدل‌های کینتیکی مختلفی بر داده‌های تجربی رهایش برازش گردید، نتایج حاصل نشان داد که رهایش از این ریزکپسول‌ها بر اساس مکانیسم نفوذ رخ داده است که به‌عنوان مکانیسم غالب در این فرایند رهایش است. از آنجایی که مواد اولیه تهیه ریزکپسول قابلیت خوراکی داشتند، این ریزکپسول‌ها می‌تواند در محصولات غذایی یا اهداف دارویی کاربرد داشته باشد.

منابع

Ai, H., Jones, S. A., & Lvov, Y. M. (2003). Biomedical applications of electrostatic layer-by-layer nano-assembly of polymers, enzymes, and nanoparticles. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 39: 23-43.

Akkermans, C., Van der Goot, A. J., Venema, P., Van der Linden, E., & Boom, R. M. (2008). Formation of fibrillar whey protein aggregates: influence of heat and shear treatment, and resulting rheology. *Food Hydrocolloids*, 22: 1315-1325.

Arsianti, Y., Hui, Zh., Sagis, L. (2011). Multilayer microcapsules based on supramolecular structures produced from bovine serum albumin and high methoxy pectin. *11th International Congress on Engineering and Food* - Athens, Greece, 29-30.

Brown, W. E., and Wilson, C. E. 1996. Individuality of flavour perceptions - the influence of mastication patterns. In Flavour science recent developments (pp. 451-455). Cambridge: *The Royal Society of Chemistry*.

Bucking, M., Haugen J.E., and Steinhart, H. 2003. Flavour Research at the Dawn of the Twenty-First Century. Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium, (pp. 528–531). *Beaune*, France.

Bolder, S.G.; Hendrickx, H.; Sagis, L.M.C.; Van der Linden, E. (2006). Fibril assemblies in aqueous whey protein mixtures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4229-4234.

Chakraborty, M., Dasgupta, S., Soundrapandian, C., Chakraborty, J., Ghosh, S., Mitra, M. K., & Basu, D. (2011). Methotrexate intercalated ZnAl-layered double hydroxide. *Journal of Solid State Chemistry*, 184, 2439–2445.

Dash, S., Murthy, P.N., Nath, L., Chowdhury, P., 2010. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Pol Pharm* 67, 217-223.

Decher, G., Hong, J. D., & Schmitt, J. (1992). Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. *Thin Solid Films*, 210-211(Part 2), 831-835.

Decher, G. (2003). Multilayer thin films: sequential assembly of nanocomposite materials. In G. Decher, & J. B. Schlenoff (Eds.) (pp. 1e46). *Weinheim*, Germany: Wiley-VCH.

Fathi, M., Mirlohi, Maryam., Varshosaz, Jaleh., & Madani Golnoosh. (2013). Novel Caffeic Acid Nanocarrier: Production, Characterization, and Release Modeling. *Journal of Nanomaterials* , 434632: 1-9.

Gunning, Y. M., Gunning, P. A., Kemsley, E. K., Parker, R., Ring S. G., Wilson, R. H., and Blake, A. 1999. Factors Affecting the Release of Flavor Encapsulated in Carbohydrate Matrixes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 5198-5205.

Humblet-Hua, K.N.P., Scheltens, G., van der Linden, E., Sagis, L.M.C. (2011). Encapsulation systems based on ovalbumin fibrils and high methoxyl pectin. *Food Hydrocolloids*, 25: 569-576.

Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S. and 2006. Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science and Technology* , 41, 1–21.

Mauser, T., Déjugnat, C., & Sukhorukov, G. B. (2006). Balance of hydrophobic and electrostatic forces in the pH response of weak polyelectrolyte capsules. *The Journal of Physical Chemistry* B, 110(41): 20246-20253.

McClements, D.J. (2005). Theoretical analysis of factors affecting the formation and stability of multilayered colloidal dispersions. *Langmuir*, 21(21): 9777-9785.

Morris, E. R., Gidley, M. J., Murray, E. J., Powell, D. A., & Rees, D. A. (1980). Characterization of pectin gelation under conditions of low water activity, by circular dichroism, competitive inhibition and mechanical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2: 327-330.

Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F., Durrieu, V. (2012). Influence of soy protein's structural modifications on their microencapsulation properties: α-Tocopherol microparticle preparation. *Food Research International*, 48:387–396.

Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., and Bugarski, B. 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806–1815.

Nishinari, K., Fang.Y., Guo. S., Phillips, G.O. (2014). Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification. *Food Hydrocolloids*, 39: 301-318.

Peyratout, C. S., & Dähne, L. (2004). Tailor-made polyelectrolyte microcapsules: from multilayers to smart containers. *Angewandte Chemie International Edition*, 43(29): 3762-3783.

Roth, G. I. and Calmes, R. 1981. Oral Biology. St. Louis: The CV Crosby Co.

Rodrigues J. A., and Barros, A. A. 1997. Determination of diacetyl in beer using differential-pulse polarography. *Journal of the Institute of Brewing*, 103, 311-314.

Sagis, L.M.C., Veerman, C., & Van der Linden, E. (2004). Mesoscopic Properties of semiflexible Amyloid Fibrils. *Langmuir*, 20: 924-927.

Sagis, L.M.C., De Ruiter, R., Rossier-Miranda, F.J., De Ruiter, J., Schroen, K., Van Aelst, A.C., Kieft, H., Boom, R., Van der Linden, E. (2008). Polymer Microcapsules with a Fiber-Reinforced Nanocomposite Shell. *Langmuir*, 24:1608-1612.

Sriamornsak, P. (2003). Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. *Silpakorn University International Journal*, 3: 206-228.

Van Ruth, S. M., and Roozen, J. P. 2000. Influence of mastication and saliva on aroma release in a model mouth system. *Food Chemistry*, 71, 339-345.

Veerman, C.; Ruis, H.; Sagis, L.M.C.; Van der Linden, E. (2002). Effect of electrostatic interactions on the percolation concentration of fibrillar β-lactoglobulin gels. *Biomacromolecules*, 3: 869-873.

Veerman, C.; Baptist, H.; Sagis, L.M.C.; Van der Linden, E. (2003). A new multistep Ca2+-induced cold gelation process for β-lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3880-3885.

Wang, C., Ye, S., Sun, Q., He, C., Ye, W., Liu, X., et al. (2008). Microcapsules for controlled release fabricated via layer-by-layer self-assembly of polyelectrolytes. *Journal of Experimental Nanoscience*, 3(2): 133-145.

Yow, H. N., & Routh, A. F. (2006). Formation of liquid coreepolymer shell microcapsules. Soft Matter, 2: 940-949.

Zandi, M., Mohebbi, M., Varidi, M., and Ramezanian, N. 2013. Evaluation of diacetyl encapsulated alginate-whey protein microspheres release kinetics and mechanism at simulated mouth conditions. *Food Research International journal*.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 553-565

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 565-553

Investigation of multilayer microcapsules based on electrostatic adsorption of soy protein isolated fibrils and high methoxyl pectin containing diacetyl

E. Ansarifar[1], F. Shahidi[2*], M. Mohebbi[2], A. Koocheki[3], N. Ramazanian[4]

Received: 2016.05.01
Accepted: 2016.08.06

Introduction: Microencapsulation has become an important technique in the food industry. One of the methods of producing microcapsules is to use layer-by-layer adsorption, in which oppositely charged polyelectrolytes are adsorbed consecutively onto a colloidal template. Creating multilayer films based on electrostatic interactions between oppositely charged components was introduced in 1991 by Decher et al. Layer-by-layer (LbL) polyelectrolyte deposition has become a popular technique for preparing polyelectrolyte capsules because of its ability to create highly tailored capsule shells through a simple, inexpensive and easily controllable adsorption process. It has been applied to produce capsules of various sizes, ranging from the nanometer to micrometer scale, with well-defined barrier properties. In this technique, assembly is driven by the electrostatic attraction of oppositely charged materials to form polyelectrolyte shells. The structure of the polyion layered capsule shell is determined mainly by the electrostatic interactions between the polyions used. The mechanical strength and permeability of the capsules can be controlled by varying the number of layers or by changing the characteristics of the encapsulating materials. The purpose of this study was to produce microcapsules using supramolecular assemblies consisting of common food ingredients such as soy protein isolate (SPI) and high methoxyl (HM) pectin. Moreover, some features of the developed microcapsulation were studied.

Materials and methods: SPI fibrils were prepared based on the method developed by Akkermans et al., (2008) and its morphology was studied using transmission electron microscopy (TEM) and atomic force microscopy (AFM). 0.5% (w/w) SPI fibril and pectin solutions were prepared by mixing at pH 3.5 were left stirring overnight. The LbL process for the production of microcapsules with protein fibril-reinforced nanocomposite shells has been described in Humblet-Hua et al., 2012. It starts with the production of A 2% w/w emulsion of (0.05 gr diacetyl in 1.95gr sun flower oil) in fibril SPI solution is produced using a homogenizer with a rotor-stator dispersion tool using a setting of 13500 rpm for 90 S. Because the proteins are below their isoelectic point, the emulsion droplets have a positive charge. To avoid interactions between the nonadsorbed SPI and the biopolymer of the next layer, the droplets are separated from the serum by means of centrifugation. After the isolation, the droplets are dispersed into a solution of HMP. The HMP is negatively charged at the chosen pH of 3.5. The bilayered droplets can be isolated again and dispersed in a fibril solution to deposit a third layer of a positively charged mixture of SPI fibrils. Subsequently, additional layers of HMP and SPI fibrils can be deposited by repeating the same procedures. Some features of the microcapsulation, including size, zeta potential, and morphology and release kinetics were studied.

Results & discussion: TEM and AFM micrographs showed that SPI fibrils obtained had a contour length of a few hundred nanometers, thickness of between 1 and 10 nm and its structure is highly branched. One of the most common problems reported in previous studies using the LbL technique to produce multilayer particles, is the tendency for flocculation. In the present system, this problem was not observed. The size distribution of isolated emulsion droplets (templates) did not change significantly from 1-layer droplets to 5-layer droplets. In other words, the emulsion droplets were stable against flocculation after applying more layers of polyelectrolytes. The Sauter mean diameters D (3, 2) of these droplets fluctuated between 5 and 7 µm and slightly increased as the number of layers increased; noting that the emulsion droplets were poly-dispersed. Another possible problem that may occur using the LbL technique is the complex formation between non-adsorbed protein and the pectin molecules. These complexes with a typical diameter smaller than 1 mm were not detected here. Result showed that the zeta potential distribution of emulsion droplets reverses from about plus (+) 30 mV (odd number of layers with SPI fibrils as outer layers) to about negative (-) 20 mV (even number of

1, 2 and 3. Former PhD. Student, Professor and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM), Mashhad, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Polymer Chemistry, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
(Corresponding author email address: fshahidi@um.ac.ir)

layers with HMP as outer layers) confirming the layer-by-layer adsorption based on electrostatic attraction. Comparing SEM of microcapsules with various numbers of layers, an improvement in shell strength can be seen. Indentation is observed on 1-layer microcapsules showing that there are defects on the shell. They could be formed during the drying process or they are shell defects due to incomplete coverage of materials, meaning more layers are needed to fully cover the microcapsule shell. These defects are seen less on 5-layer microcapsules. These observations indicate that the more layers the more consistent the shells and the more resistant. It is against the physical drying process. Results showed that the time of the maximum in release shifts to higher values as the number of layers of the capsules increased. We clearly see that increasing the number of layers in the shell of the capsules leads to a delay of the release of diacetyl and maximum release time as a function of the number of layers is increasing steadily which show the release can be delayed even more by adding additional layers. These results prove that the release properties of the multilayer capsules can be tuned by controlling the number of layers in the shell of the capsules. The modeling results of four different kinetic models are indicated that the Rigter–Peppas was an appropriate model for diacetyl release prediction from multilayer microcapsulation. It could be attributed that the release mechanism is mostly governed by the Swelling–Fickian mechanism.

Conclusion: In this study, the microcapsules were produced using the LbL technique and food-grade SPI fibrils and HMP. The microcapsules had a poly-disperse size distribution. No flocculation of microcapsules during applying of additional layers was observed. It was found that increasing the number of layers, decreases the release rate of diacetyl. The diacetyl release data were kinetically evaluated by zero-order, first-order, Higuchi, and Rigter–Peppas models and the results showed that the release phenomena is mostly governed by the Fickian mechanism. Since the materials are food-grade, the applications of these microcapsules can include food products or pharmaceutical purposes.

Keywords: Multilayer microcapsules, Controlled release, Soy protein isolated fibril, Pectin, Diacetyl

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 566-574

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 574-566

بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره آویشن شیرازی و تیمول بر ماندگاری قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*)

مینو رستگار[1]- سید اسماعیل رضوی[2]*- پونه ابراهیمی[3]

تاریخ دریافت: 1394/03/03
تاریخ پذیرش: 1394/11/05

چکیده

پوشش خوراکی حاوی عصاره آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) به‌عنوان عامل جلوگیری‌کننده از فساد میکروبی و افزایش ماندگاری قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از دستگاه GC Mass ترکیب‌های موجود در آویشن شیرازی شناسایی و مقدار تیمول به‌عنوان ترکیب ضدمیکروبی با استفاده از دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. هم‌چنین شناسایی بار میکروبی در سطح کلاهک قارچ و اثر عصاره آویشن و تیمول با غلظت‌های 70و 105 میلی‌گرم بر لیتر در محیط کشت غذایی بر روی باکتری و کپک بررسی گردید. بدین منظور کلاهک رسیده قارچ دکمه‌ای با کربوکسی متیل‌سلولز 1 درصد به‌همراه عصاره آویشن شیرازی با سه غلظت 82/5، 125و 187/5 میلی‌گرم در لیتر پوشش داده و در دمای 8 درجه سلسیوس به‌مدت دو هفته نگه‌داری شدند و بار میکروبی در روز اول، هفتم و چهاردهم مورد بررسی گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد، باکتری *Psudomonas* sp. و کپک *Aspergillus* sp. در مراحل مختلف نگه‌داری در سطح کلاهک نمونه شاهد رشد می‌کنند. همچنین درسطح محیط غذایی و کلاهک پوشش داده شده با افزایش غلظت آویشن و تیمول از تراکم باکتری و کپک کاسته شد. به‌طوریکه در غلظت 187/5 میلی‌گرم بر لیتر عصاره آویشن و 105 میلی‌گرم بر لیتر تیمول برای جلوگیری از رشد کپک و غلظت 125 میلی‌گرم بر لیتر عصاره آویشن و 70 میلی‌گرم بر لیتر تیمول برای جلوگیری از رشد باکتری مناسب می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: قارچ دکمه‌ای، آویشن شیرازی، تیمول، پوشش خوراکی، زمان ماندگاری

مقدمه

قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) دارای رطوبت حدود 90 درصد است. این مقدار بالای رطوبت باعث آسیب‌پذیرتر شدن در برابر میکروب‌ها و واکنش‌های شیمیایی می‌شود (Hershko *et. al*, 1998). در چنین شرایطی باکتری‌ها و کپک‌ها، با فعالیت آنزیماتیک و تغییرات بیوشیمیایی می‌توانند در طول مدت نگه‌داری موجب فساد قارچ شوند (Masson *et. al*, 2002). برای کاهش سرعت فساد قارچ از روش‌هایی مانند بسته‌بندی اصلاح شده، پوشش‌دهی تیمار با محلول‌های ضدمیکروبی و قهوه‌ای شدن استفاده شده است (زاهدی و همکاران، 2010). هم‌چنین پژوهش‌هایی جهت استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌منظور بهبود ماندگاری مواد غذایی، تاخیر رشد قارچ‌ها و جلوگیری از تولید سموم قارچی صورت گرفته است (Durling *et al*,. 2007 ;Rasooli *et al*,. 2006;Thompson, 1989).

آویشن شیرازی متعلق به خانواده Laminaceae بوده و گیاه بومی ایران می‌باشد (Ali *et al*,. 2000). این گیاه دارای ترکیب اصلی از نوع اسانس روغنی بوده که حاوی مشتقات فنلی مانند کارواکرول و تیمول می‌باشد (Aligiannis *et al*,. 2001). واکنش اجزای اسانس با یکدیگر نقش مهمی در تعیین اثر ضدمیکروبی گیاه ایفا می‌کند. به‌طوری‌که تیمول و کارواکرول اثرات تشدیدکنندگی ضدمیکروبی دارند (Didry *et al*,. 1994). البته تیمول نسبت به کارواکرول نقش مهم‌تری در افزایش خاصیت ضدمیکروبی ایفا می‌کند. هر چند کارواکرول از طریق تغییر در نفوذپذیری کانال‌های H^+/K^+ و شیب یونی در غشای سلولی منجر به توقف و اختلال عملکرد سلول و مرگ می‌شود (Ultee *et al*,. 1999). محبوبی و فیض آبادی (1388) نشان دادند، قارچ‌ها نسبت باکتری‌ها به اسانس‌های مرزه، مرزنجوش و آویشن حساس‌تر می‌باشند، ولی نسبت به اسانس اکالیپتوس باکتری‌های از قارچ‌ها حساس‌تر بودند. تیمول و کارواکرول به‌عنوان اجزای اصلی اسانس مرزنجوش، آویشن و

1- کارشناس ارشد، صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
2- استادیار، گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
3- دانشیار، دانشگاه گلستان، گروه شیمی
(* - نویسنده مسئول: Email: razavi@gau.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.47068

کارواکرول به‌عنوان جزء عمده در اسانس مرزه نقش مهمی در این اثر بخشی داشت. بطورکلی اسانس‌های گیاهی روی قارچ‌ها اثر مهارکنندگی بیشتری نسبت به باکتری‌ها داشته، ولی اثر باکتری‌کشی آنها بیشتر از قارچ‌کشی می‌باشد (Kraft and Hobbs, 2004).

بررسی‌های جوانمرد و رمضان (1388)، نشان داد که پوشش‌های حاصل از پروتئین آب پنیر حاوی مواد ضدمیکروبی طبیعی بوده و توانایی جلوگیری از آلودگی و رشد ثانویه قارچ‌ها را بر روی سطح مغز پسته خواهند داشت و افزایش میزان عصاره الکلی در ترکیب فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر باعث کاهش رشد قارچ *Aspergillus flavus* بر روی محیط کشت می‌شود علاوه بر این چنین پوشش‌ها می‌توانند از تغییرات انبارمانی مغزهای خوراکی مانند کاهش وزن، فساد میکروبی و جذب رطوبت کاسته، منجر به افزایش ماندگاری و سلامت مغزهای خوراکی در طی مدت ذخیره سازی شوند (Doster *et al*,. 1994).

ترکیب‌های غیرطبیعی دارای اثرات سوء برای مصرف‌کنندگان می‌باشند و ضمن تخریب محیط زیست، سلامت استفاده‌کنندگان را به خطر می‌اندازند. از طرفی اسانس‌های طبیعی که زمینه مواد اولیه و تولید آن‌ها در کشور با قابلیت بسیار بالایی موجود است، می‌توانند جایگزین مناسبی برای نگهداری موادغذایی باشند. بدین منظور بررسی تأثیر پوشش خوراکی حاوی عصاره آویشن شیرازی و تیمول بر زمان ماندگاری قارچ خوراکی دکمه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ابتدا کلاهک قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) رادر مهر 93 از مرکز پرورش قارچ شهرستان آق‌قلا تهیه شد و به یخچال با دمای 8 درجه سلسیوس منتقل گردید (زاهدی و همکاران، 1390). سپس مراحل تیمار، پوشش‌دهی و استفاده از عصاره آویشن شیرازی به شرح ذیل انجام شد.

تهیه محلول پوشش‌دهی

محلول پوشش‌دهی با افزودن 1 درصد وزنی- حجمی پودر کربوکسی متیل‌سلولز (مرک) و گلیسرول (50% وزنی/ وزنیCMC) و حرارت‌دهی تحت هم‌زدن انجام شد (زاهدی و همکاران، 1390).

روش عصاره‌گیری آویشن شیرازی

عصاره‌گیری بر اساس روش دورلینگ و همکاران (2007) انجام شد. برای این کار مقدار 20 گرم آویشن شیرازی که از شرکت داروسازی گیاه اسانس گرگان تهیه شده بود را آسیاب نموده و پودر بدست آمده را داخل بشر 120 میلی‌لیتر حلال اتانول/ آب (75 قسمت الکل– 25 قسمت آب) اضافه شده و داخل انکوباتور شیکردار در دمای 40 درجه سلسیوس به مدت 3 ساعت تکان داده، سپس توسط روتاری اواپراتور حلال کاملا از تفاله جدا گردید. ماده خشک حاصل از روتاری را با غلظت 48 درصد تهیه و عصاره آویشن بدست آمده را در ظرف تیره، داخل یخچال نگهداری گردید (اجنوردی و همکاران، 1391).

شناسایی ترکیبات آویشن شیرازی

برای شناسایی ترکیبات آویشن شیرازی از دستگاه GC Mass مدل VARIAV CP3800 و ستون VF5MS استفاده گردید. عصاره آویشن بدست آمده به دستگاه تزریق گردید و ترکیب‌های شیمیایی مرتبط با اهداف آزمایش مشخص گردید.

جهت اندازه‌گیری مقدار تیمول در آویشن از دستگاه HPLC استفاده شد. مشخصات دستگاه HPLC مدل هیتاچی دتکتور Diode Array طول موج 210 نانومتر فاز استونیتریل/ آب به نسبت 40/60 و ستون RP18 (250×4mm, 5µm) و جریان 1 ml/min بکار گرفته شد. برای انجام آزمایش مقدار 20 میکرولیتر از عصاره آویشن در غلظت 125 و 187/5 میلی‌گرم بر لیتر و تیمول در غلظت‌های استاندارد 5، 10، 35، 50 و 110 میلی‌گرم بر لیتر تزریق شد و منحنی آن رسم گردید. سپس برای محاسبه مقدار تیمول در عصاره آویشن شیرازی از منحنی استاندارد تیمول استفاده گردید.

تیمار قارچ

کلاهک قارچ با محلول ضدقهوه‌ای شدن اسید اسکوربیک 1درصد به مدت 3 دقیقه تیمار، سپس با آب شستشو داده شد تا بقایای اسید از روی قارچ زدوده شود. کلاهک قارچ روی کاغذ جاذب قرار داده شد تا رطوبت اضافی آن گرفته شود. در ادامه کلاهک‌ها را به مدت 3 دقیقه داخل محلول پوشش کربوکسی‌متیل سلولز حاوی عصاره آویشن شیرازی با غلظت‌های 82/5، 125و 187/5 میلی‌گرم بر لیتر قرار داده تا ماده پوشش جذب سطح کلاهک قارچ گردد. سپس نمونه تیمار شده از محلول پوشش خارج و به مدت زمان 5 دقیقه بر روی سبد مشبک در دمای اتاق قرار گرفته تا مواد اضافی خارج گردد. در انتها کلاهک‌های تیمار شده به‌صورت انفرادی وزن و درون ظرف بسته‌بندی قرار گرفته و به یخچال 8 درجه سلسیوس منتقل گردید (زاهدی و همکاران، 1390).

بررسی میکروبی

برای این هدف از سطح کلاهک قارچ‌های تیمار شده در سه زمان روز اول، هفتم و چهاردهم نمونه‌برداری صورت گرفت. ابتدا قطعاتی به‌ابعاد 3×3 سانتی‌متر از پوست کلاهک را برداشته و در لوله حاوی 25 میلی‌لیتر پپتون-آب قرار داده و بعد از به هم‌زدن به مدت 2 دقیقه 5 میلی‌لیتر از سوسپانسیون بدست آمده را بر محیط کشت غذایی نوترینت-آگار (ن-آ) برای بررسی آلودگی باکتری و

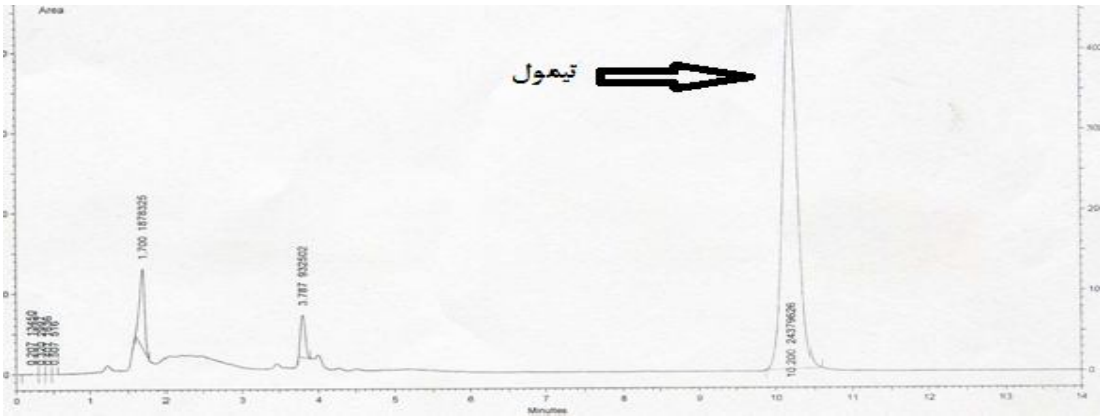
سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (پ-د-ا) جهت بررسی کپک کشت داده شدند. نمونه‌های کشت داده شده در دمای 28-25 درجه سیلسیوس به‌مدت 3 تا 5 روز نگه‌داری شدند. سپس با آزمون‌های میکروبی و بررسی ریخت‌شناسی خردسازوارهای رشد یافته، شناسایی شدند (ژیانگ، 2013).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگیMIC

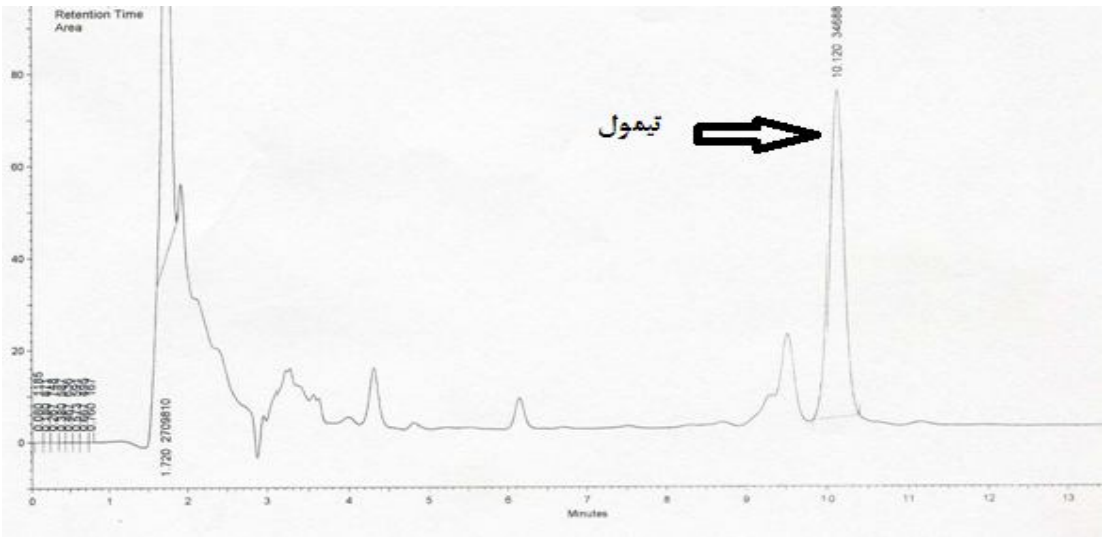
ابتدا محیط کشت غذایی ن-آ و پ-د-آ تهیه و در پتردیش ریخته شد. بر اساس آزمایش اولیه به عمل آمده حدود غلظت مناسب عصاره آویشن تعیین شد. سپس در قسمت وسط محیط کشت غذایی چاهکی ایجاد و داخل آن به‌مقدار 0/125 میلی‌لیتر از عصاره آویشن شیرازی با غلظت‌های 82/5، 125و 187/5 میلی‌گرم بر لیتر و تیمول با غلظت‌های70 و 105 میلی‌گرم بر لیتر ریخته شد. سپس در اطراف چاهک با فاصله 3 سانتی‌متری باکتری و کپک جدا شده در سه تکرار کشت داده شدند و نمونه‌ها در دمای 28-25 درجه سیلسیوس نگهداری شدند. برای تعیین میزان بازدارندگی، میزان ناحیه ممانعت از رشد باکتری و کپک در روز اول، هفتم و چهاردهم اندازه‌گیری شد (جوانمرد و رمضان، 1388).

نتایج و بحث

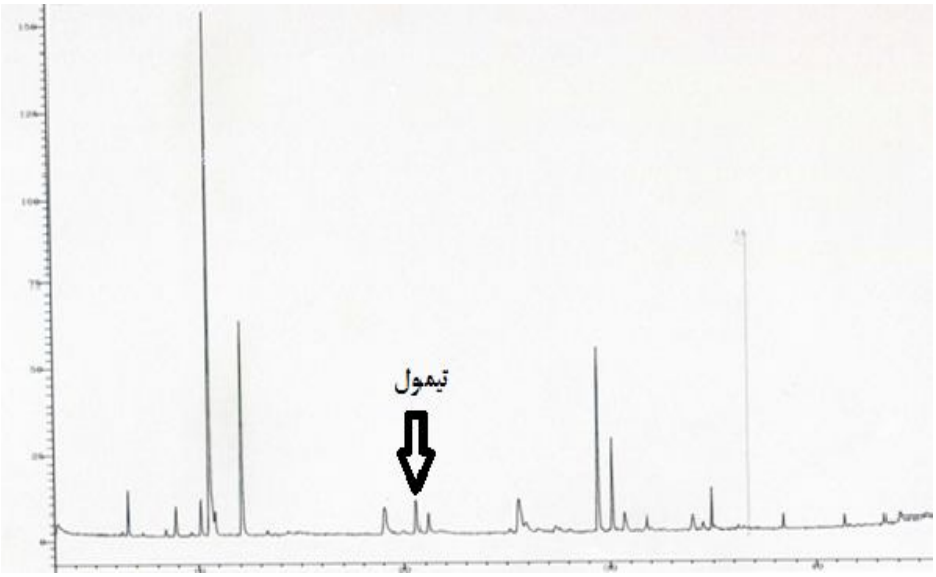
با توجه به منحنی استاندارد بدست آمده مقدار تیمول در عصاره آویشن 125 و 187/5 به‌ترتیب 70 و 105 میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب تعیین شد (شکل 1، 2 و3). از این غلظت‌های بدست آمده برای تیمول در بررسی میزان بازدارندگی میکروبی استفاده گردید.



شکل 1- پیک استاندارد تیمول غلظت 50 میلی‌گرم بر لیتر (زمان 10/2 دقیقه)، دستگاه HPLC



شکل 2- پیک عصاره آویشن غلظت 125 میلی‌گرم بر لیتر (زمان 10/12 دقیقه)، دستگاه HPLC



شکل 3- پیک‌های مربوط به عصاره آویشن شیرازی، دستگاه GC Mass (پیک تیمول در زمان 20/6 دقیقه)

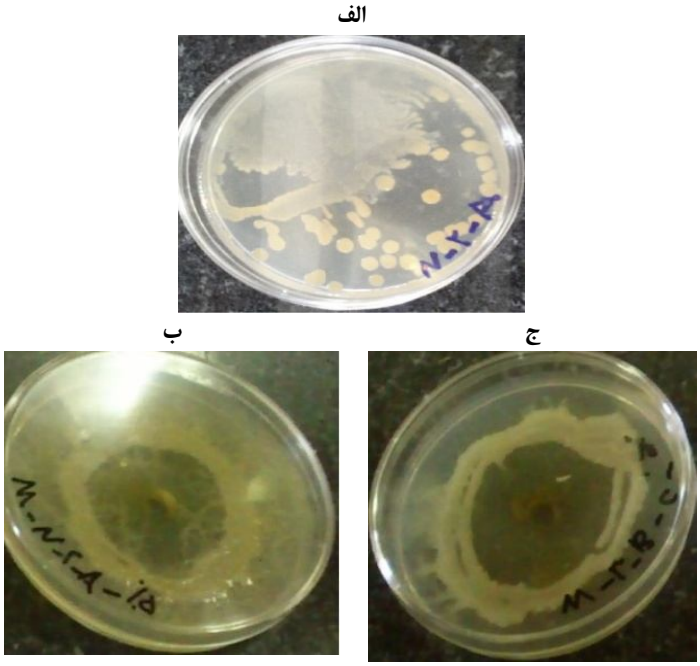
جدول 1- عصاره آویشن شیرازی اندازه‌گیری شده توسط دستگاه GC Mass

نام ترکیب	درصد ترکیب
3-Carene	2.093
Ø-pinene	0.404
O-Terpelene	1.970
p-Cymene	34.939
P-Cineole	0.382
p- Terpinen	13.628
R-Pluegone	0.326
Thymol	2.962
Carvacrol	5.430
Caryophyllene	0.313
Ledene	0.824
Spathulenol	1.475

نتایج بدست آمده از کشت‌های انجام شده باکتری (*Psudomonas* sp.) و کپک (*Aspergillus* sp.) سطح کلاهک‌ها جداسازی و شناسایی شدند (شکل4و 5). نتایج بدست آمده از اثر عصاره آویشن شیرازی بر رشد باکتری و کپک مشخص نمود که افزایش غلظت آویشن شیرازی بر جمعیت باکتری و کپک تأثیر مستقیم دارد، به‌طوری‌که بر روی محیط کشت غذایی میزان رشد باکتری (*Psudomonas* sp.) در غلظت 82/5 میلی‌گرم بر لیتر 1 سانتی‌متر ناحیه بازدارنده از رشد و در غلظت 125 میلی‌گرم بر لیتر به 2 سانتی‌متر ناحیه بازدارنده از رشد رسید (شکل 4- ب، ج و شکل 6). البته در غلظت 187/5 میلی‌گرم بر لیتر هیچ‌گونه باکتری رشد نکرد. ولی میزان رشد در مورد کپک (*Aspergillus* sp.) در غلظت 125 میلی‌گرم بر لیتر به مقدار1 سانتی‌متر ناحیه بازدارنده از رشد و در 187/5 میلی‌گرم بر لیتر به 2 سانتی‌متر ناحیه بازدارنده از رشد رسید (شکل5- ج، د و شکل6).

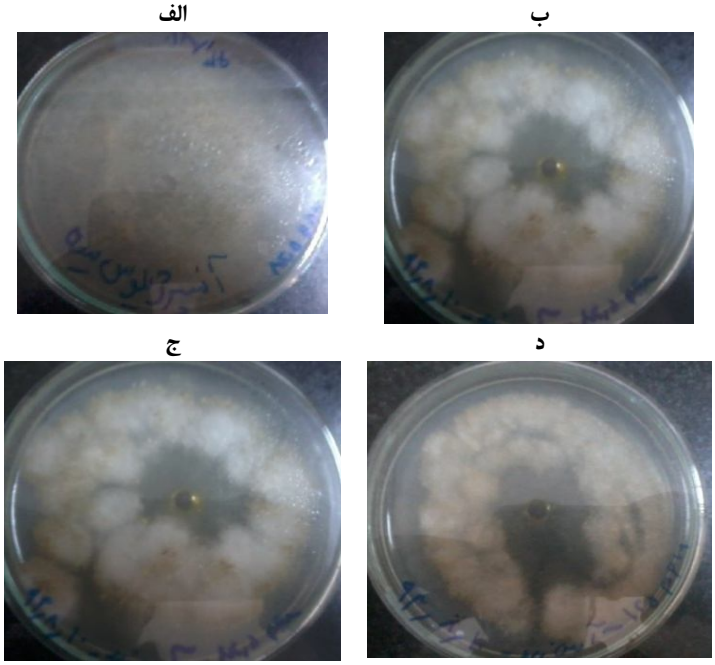
فراوانی باکتری (*Psudomonas* sp.) و کپک (*Aspergillus* sp.) در نمونه‌های کلاهک قارچ تیمار شده و شاهد روز اول در تمام تیمارها یکسان و به مقدار کم بود. این فراوانی در نمونه شاهد با افزایش مدت زمان نگه‌داری بیشتر می‌شد. به‌طوری‌که در پایان روز چهاردهم به حداکثر رسید. ولی میزان جمعیت باکتری (*Psudomonas* sp.) و کپک (*Aspergillus* sp.) در تیمارهای با پوشش و عصاره آویشن نسبت به شاهد کمتر بود. هرچند با افزایش مدت نگه‌داری روند افزایش جمعیت باکتری و کپک رابطه مستقیم دیده می‌شد (شکل7). نتایج نشان داد که پوشش‌دهی به تنهایی بر فراوانی جمعیت باکتری (*Psudomonas* sp.) و کپک (*Aspergillus* sp.)

تأثیر دارد و نسبت به شاهد از فراوانی کمتر و نسبت به عصاره آویشن از فراوانی بیشتر برخوردار می‌باشد، به‌طوری که تیمارهای حاوی پوشش و آویشن از نظر فراوانی باکتری (*Psudomonas* sp.) و کپک (*Aspergillus* sp.) نسبت به پوشش تنها تفاوت قابل توجهی داشتند. هم‌چنین بین غلظت‌های مختلف آویشن شیرازی و جمعیت باکتری رابطه مستقیمی دیده می‌شد و با افزایش غلظت از میزان آن‌ها به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاسته می‌شد (شکل 7).



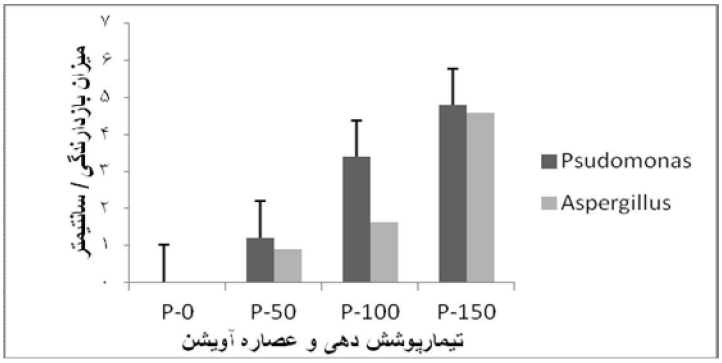
شکل 4- میزان بازدارندگی عصاره آویشن شیرازی از رشد باکتری

شاهد (الف)، غلظت 82/5 میلی‌گرم بر لیتر (ب)، 125 میلی‌گرم بر لیتر ج)

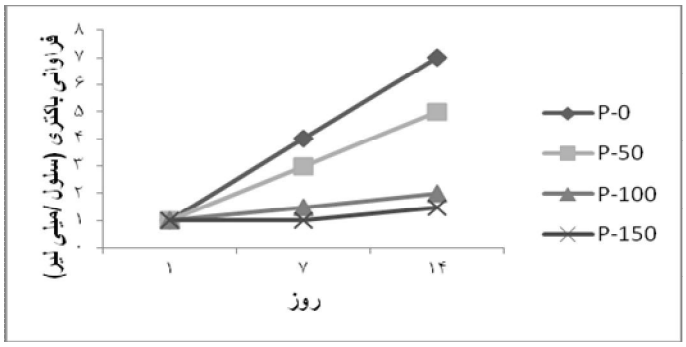


شکل 5- میزان بازدارندگی عصاره آویشن شیرازی از رشد کپک

شاهد (الف)، غلظت 82/5 میلی‌گرم بر لیتر (ب) غلظت 125 میلی‌گرم بر لیتر ج) غلظت 187/5 میلی‌گرم بر لیتر (د)



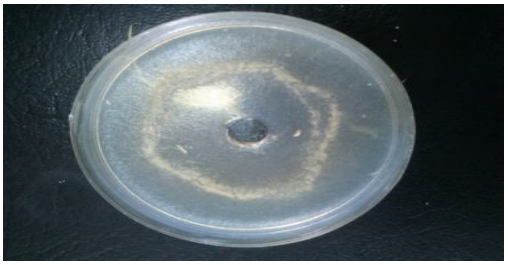
شکل 6- میزان تأثیر پوشش‌دهی و پوشش به‌همراه آویشن شیرازی بر بازدارندگی از رشد باکتری (*Psudomonas*) و کپک (*Aspergillus*) در روی محیط کشت



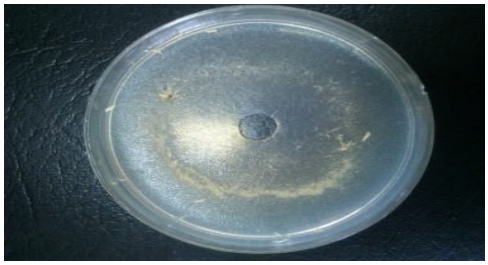
شکل 7- روند رشد جمعیت باکتری بر روی کلاهک قارچ *Agaricus bisporus* در مدت نگه‌داری

(P.0 = پوشش، P.50= پوشش و عصاره آویشن 82/5 میلی‌گرم بر لیتر، P.100 = پوشش و عصاره آویشن 125 میلی‌گرم بر لیتر و P.150= پوشش و عصاره آویشن 187/5 میلی‌گرم بر لیتر).

نتایج بدست آمده از استفاده تیمول در محیط کشت غذایی نشان داد که هر دو غلظت 70 و 105 میلی‌گرم بر لیتر مانع از رشد باکتری و کپک گردیدند. بطوری‌که بعد از سه روز از کشت باکتری در غلظت 70 میلی‌گرم بر لیتر ناحیه ممانعت‌کنندگی به شعاع 2 سانتی‌متر ایجاد گردید و غلظت 105 میلی‌گرم بر لیتر تیمول باکتری هیچ پیش روی به طرف مرکز حاوی تیمول نداشت (شکل8). نتایج مربوط بـه رشـد کپک در محیط حاوی تیمول نشان داد که بعد از سه روز در غلظـت 70 میلی‌گرم بر لیتر 1 سانتی‌متر و غلظت 105 میلی‌گـرم بـر لیتـر 2 سانتی‌متر ناحیه ممانعت‌کنندگی ایجاد شد. هر چند بین دو غلظت 70 و 105 میلی‌گرم بر لیتر تیمول اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصـد دیده نشد.



الف



ب

شکل 8- میزان بازدارندگی تیمول از رشد باکتری: 70 میلی‌گرم بر لیتر (الف) و 105 میلی‌گرم بر لیتر (ب)

پوشش‌دهی قارچ‌ها راه‌کاری سودمند برای توسعه ماندگاری قارچ‌ها می‌باشد. قارچ‌های پوشش‌دهی شده افت رطوبت کمتر، سفتی بیشتر و ویژگی‌های ظاهری و رنگ بهتری در مقایسه با قارچ‌های بدون پوشش دارند (زاهدی و همکاران، 1390). استفاده از پوشش‌های فعال مواد غذایی امروزه به‌طور گسترده‌ای به‌منظور افزایش طول عمر مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تحقیق اجنوردی و همکاران (1390) نشان داد که با افزایش غلظت پروتئین آب پنیر و عصاره آویشن شیرازی و کاهش غلظت گلیسرول، میزان تغییرات رنگ میوه هلو انجیری به حداقل مقدار خود می‌رسد. در این پژوهش نیز مشخص شد تیمارهای دارای پوشش و پوشش با عصاره آویشن دوره ماندگاری بیشتری نسبت به شاهد دارند. بنابراین نتایج بدست آمده منطبق با کارهای سایر محققان می‌باشد.

امروزه در خصوص اثر آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی و اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مطالعات زیادی صورت می‌گیرد که نشان‌دهنده تلاش برای کاهش استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و همچنین تمایل روز افزون مصرف‌کنندگان برای استفاده از افزودنی‌های طبیعی می‌باشد. اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی از منابع مفید ترکیبات ضدمیکروبی می‌باشند و معمولا تحت تاثیر مناطق مختلف جغرافیایی، سن گیاه، قسمت مورد استفاده گیاه و روش اسانس‌گیری می‌باشند (گواهیان و همکاران، 2012). در این پژوهش نیز مشخص شد که عصاره آویشن اثر ضدباکتریایی و کپکی دارد و با افزایش غلظت عصاره میزان بازدارندگی افزایش می‌یابد.

ترکیب‌های بسیار زیادی در اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی وجود دارند نتایج حاصل از بررسی آلیژیانس و همکاران (2001)، نشان داد هر چه میزان مواد فنولی اسانس بالاتر باشد اثرات ضدمیکروبی آن بیشتر می‌شود. همچنین عصاره آویشن شیرازی دارای ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول است؛ که بیشترین نقش در ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشد. در این پژوهش مشخص شد، آویشن شیرازی دارای ترکیب شیمیایی مختلف است که یکی از این ترکیب‌ها تیمول به میزان 2/96 درصد کل ترکیب‌ها را تشکیل می‌دهد و میزان مناسبی در جهت کنترل عوامل میکروبی می‌باشد.

بررسی جوانمرد و همکاران (1388)، نشان دادند که پوشش‌های حاصل از پروتئین آب پنیر بر روی مغز پسته حاوی عصاره الکلی آویشن شیرازی بطور معنی‌داری باعث جلوگیری از رشد قارچ *A. flavus* در رطوبت نسبی 75 درصد شدند. همچنین ویودی و همکاران (2007) نشان دادند که اسانس آویشن باعث کاهش رشد میسلیوم قارچ *A. flavus* در مقادیر 2، 4 و 6 میلی‌لیتر و همچنین مهار رشد در 8 میلی‌لیتر می‌شود. در این پژوهش نیز مشخص شد که عصاره آویشن به‌همراه پوشش اثر ضدباکتریایی و کپکی داشته و با افزایش غلظت عصاره میزان بازدارندگی افزایش می‌یابد.

بررسی‌های لاهوجی و همکاران (1389) نشان داد که اسانس‌های آویشن شیرازی با غلظت 16میکرولیتر در 100 میلی‌لیتر، مرزه با غلظت 31/5 میکرولیتر در 100 میلی‌لیتر، تیمول با غلظت 70 میکرولیتر در 100 میلی‌لیتر و کارواکرول با غلظت 15 میکرولیتر در 100 میلی‌لیتر، سبب بازداری کامل از رشد تمامی جدایه‌های قارچ *F. graminearum* در محیط پ-د-آ شده‌اند. مسکوکی و مرتضوی (1383) غلظت 200 میکرولیتر در 20 میلی‌لیتر از اسانس آویشن را بر قارچ *A. parasiticus* موثر دانسته‌اند.

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش غلظت عصاره آویشن 125 میلی‌گرم بر لیتر و تیمول 70 میلی‌گرم بر لیتر مناسب برای پوشش‌دهی و ممانعت از رشد باکتری می‌باشند. ولی در مورد کپک غلظت عصاره آویشن187/5 میلی‌گرم بر لیتر و تیمول 105 میلی‌گرم بر لیتر مناسب برای پوشش‌دهی و ممانعت از رشد کپک می‌باشند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تیمول نقش موثری در ممانعت از رشد باکتری و کپک دارد.

نتیجه‌گیری

آویشن شیرازی با دارا بودن ترکیبات موثری مانند تیمول می‌تواند به‌عنوان پوشش مناسبی بر روی مواد غذایی به‌ویژه قارچ خوراکی استفاده نمود تا زمان ماندگاری آن را بعد از برداشت افزایش داد.

منابع

Ali, M., Saleem, M., Ali Z & Ahmad, VU. 2000, Chemistry of *Zataria multiflora* (Laminaceae).*Phytochem*, 55: 933 - 6.

Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Chinou, IB., Mitakou, S., Gikas, E, &Tsarbopoulos, A. 2001, Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Wave taxa* of Sideritis from Greece. *J. of Agricultural and Food Chem*, 49, 811 – 5.

Ajnorde, S., Javanmard, M. and Asadallahe, S. 2012. Iranian Food Scince and Technology Research Journal 8(3): 337-348.

Durling, NE., Catchpole, OJ., Grey, JB., Webby, RF., Mitchell, KA., Foo, LY., & Perry, NB. 2007, Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol – water Mixtures, *Food*

Chem, 101, 1417 - 24.

Doster, MA, & Michailides, TJ. 1994, Aspergillus molds and aflatoxin in pistachio nuts in california.*Phytopathol*, 84, 583 - 90.

Didry, N., Dubreuil, L., Pinkas, M. 1994, Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenole on oral bacterial, *Pharm, Acta. Helv*, 69, 25-8.

Jiang, T. 2013. Effect of alginate coating on physicochemical and sensory qualities of button mushrooms (Agaricus bisporus) under a high oxygen modified atmosphere. *Postharvest Biology and Technology*. 76: 91–97

Masson, Y., Ainsworth, P., Fuller, D,.Bozkurt, H,. and Ibanoglu, S. 2002, Growthof Pseudomonas fluorescens and Candida sake in homogenized mushroom under modified atmosphere. *Journal of Food Engineering*, 54. 125- 131.

Hershko, V. and Nussinovitch, A. 1998,. Relationships between Hydrocolloid Coating and Mushroom Structure, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, pp 2988-97.

Hosseini, S.M. M. A.2008. Microbial, Physical and Mechanical Properties of Chitosan Based Edibie Films Incorporated with Thyme nd Clove Essential Oils. JFST 5(2):41-49.

Javanmard ,M. and Ramazan, Y. 2009. Application of Edible Coatings Incorporated Avishan-e Shirazi (*Zataria multiflora*) Alcoholic Extract for Inhibition of *Aspergillus flavus* Growth on the Pistachio Kernel. Journal of Medicinal Plants 8(2):61-70.

Kraft, K, & Hobbs, C. 2004, Pocket guide to herbal medicine, 1th Ed, New York, Thieme Stuttgart, pp: 61 – 2.

Lahooji, A., Mirabolfathy, M. and Karami-Osboo. 2010. Effect of *Zataria multiflora* and *Satureja hosrtensis* essential oils, thymol and carvacrol on growth of *Fusarium gramineum* isolates and deoxynivalenol production. Iran Journal Plant Pathology 46(1):11-13.

Mahboubi M, Feizabadi M. . 2009. The Antimicrobial Activity of Thyme, Sweet Marjoram, Savory and Eucalyptus oils on *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. JMP; 2 (30) :137-144

Rasooli, I., Rezaei, MB., Allameh, A. 2006, Inhibition and morphological alterations of Aspergillus niger by essential oils from Thymus eriocalyx and Thymus xporlock, *Food Control*, 17, 359 – 4.

Thompson, DP. 1989, Fungi toxic activity of essential oil components on food storage fungi, *Mycologia*, 81, 151 – 3.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez J and Perez-Álvarez JA. 2007. Antifungalactivities of thyme, clove and oregano essential oils. *J. of Food Safety*; 27 (1): 91 – 101.

Zahade, Y. and Sadagad, N. 2011. Increase the *Agaricus bisporus* fungus survival through acidic washing and coating with biopolymers. 20th Congress of Food Science and Technology. P.11

Ultee, A., Kets, EPW, & Smid, EJ. 1999, Mechanism of action of carvacrol on the food borne pathogen Bacillus cereus, *Applied and Environmental Microbiol*, 65 (10), 4606 - 10.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 566-574

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 574-566

Study of antimicrobial properties of *Zataria multiflora* extract and timol on durability and stability of edible mushroom *(Agaricus bisporus)*

M. Rastegar[1], S. E. Razavi[2*], P. Ebrahimi[3]

Received: 2015.05.24
Accepted: 2016.01.25

Introduction: White button mushroom (*Agaricus bisporus*) has a high moisture content (~90%) which makes it more vulnerable to the germs and chemical reactions. The contents of fungus coating are beneficial for shelf-life extension of mushroom. Coated mushrooms loss less moisture and have firmness, better appearance and color features than uncoated mushrooms (Zahedi et al., 1390). Application of food coatings is widely used in order to extend the shelf-life of foods including mushrooms. These methods include improved packaging methods, coated treatment with a solution of anti-microbial, plant extracts and anti-browning agents. The essential oil of thyme plant *(Zataria multiflora*) contains derivatives of phenol such as carvacrol and thymol (Aligiannis *et. al*, 2001). The interaction of essential components with each other plays an important role in determining antimicrobial effect. Therefore, the synergistic antimicrobial effects of thymol and carvacrol are enhanced (Didry *et. al*, 1994). It is worth noting that carvacrol through changes in permeability of H^+/K^+ ion channel in the cell membrane leads to the suppression of cell dysfunction and ultimately death (Ultee *et al*, 1999).

Materials and methods: Cap of button mushroom was coated by carboxymethyl cellulose, glycerol and thyme extract. In order to identify the thyme components, GC Mass model VARIAV CP3800 and VF5MS column was used. Also to measure the amount of thymol in thyme extract, HPLC method was used. The cap of button mushroom was sampled in three days (first day, seventh and fourteenth) and cultured in the food culture of PDA and NA.

Results and discussion: The results showed that the bacteria *Psudomonas* sp. and the mold *Aspergillus* sp. in various stages of maintenance of the control samples are observed in the warheads. The coating with thyme extract reduced the population of bacteria and mold. The results also showed that the medium level of microbial density was reduced with increasing concentrations of thyme extract. Therefore, the bacteria and mold did not grow in the extract concentration of 5.187 mgL^{-1}. Thymol in a concentration of 70 and 105 ppm inhibited the growth of bacteria and mold, respectively. According to the results, 5.187 ppm thyme extract and 105 ppm thymol are suitable for coating and prevent the growth of bacteria and mold. The population of bacteria and mold in the treated and untreated samples of mushroom cap were identical. It was much more in the control sample with increasing storage time and was maximum at the end of the fourteenth day. The population of bacteria and mold in the coated samples and thyme extracts was lower than control samples. The direct relationship was observed with increasing storage time in the population growth of bacteria and mold. Lyzhyans et al. (2001) showed that the amount of phenolic oil is higher, the more antibacterial activity. The extract of thyme also contain phenolic compounds of thymol and carvacrol which have the most important role in creating antioxidant properties.

Key Words: Agaricus bisporus, carboxymethyl cellulose, Pseudomonas, Zataria multiflora.

1. M. Sc. Center Laboratory, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource, Gorgan, Iran
2. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource, Gorgan, Iran.
3. Associate Professor, Department of Chemistry, Golestan University, Gorgan, Iran.
(Corresponding author email address: razavi@gau.ac.ir)

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 575-583

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 583-575

تاثیر صمغ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز بر خواص کیفی نان باگت بدون گلوتن بر پایه مخلوط مساوی آرد ذرت و آرد سیب‌زمینی

سارا موحد[1*] - الهام کاکایی[2] - حسین احمدی چناربن[3]

تاریخ دریافت: 1394/07/17
تاریخ پذیرش: 1395/09/28

چکیده

مصرف گلوتن در برخی افراد از جمله بیماران سلیاکی، باعث آسیب جدی به مخاط روده کوچک شده که نتیجه آن کاهش جذب مواد مغذی، کاهش وزن، نفخ شکم و افسردگی می‌باشد. طبق تحقیقات انجام شده، استفاده از رژیم غذایی بدون گلوتن، مهم‌ترین روش درمان سلیاک محسوب می‌گردد. در این راستا در پژوهش حاضر، بهبود خواص کیفی نان باگت تولید شده از آرد ذرت و آرد سیب‌زمینی، با افزودن صمغ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز در چهار سطح (0/25 ، 0/5 ، 0/75 و 1 درصد وزنی- وزنی بر پایه آرد) مورد نظر بود. با توجه به نتایج، تیمار حاوی 1 درصد صمغ، از بیشترین و تیمار شاهد (فاقد صمغ مذکور) از کمترین مقدار رطوبت و فیبر برخوردار بودند. ضمن آن‌که از لحاظ درصد پروتئین و خاکستر تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. همچنین با افزایش صمغ، میزان بازدهی خمیر و حجم نان در تیمارها نسبت به شاهد افزایش اما بازدهی نان کاهش یافت. با توجه به نتایج حاصل از ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های نان باگت بدون گلوتن، تیمارهای حاوی 1 درصد صمغ HPMC از بهترین امتیاز برخوردار بودند. همچنین با توجه به نتایج آزمون بیاتی به روش حسی و دستگاهی، در فواصل زمانی 24، 48 و 72 ساعت پس از پخت، تیمار حاوی 1 درصد صمغ HPMC دارای کمترین و شاهد دارای بالاترین میزان بیاتی بودند.

واژه های کلیدی: سلیاک، نان بدون گلوتن، صمغ، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز، آرد سیب‌زمینی، آرد ذرت.

مقدمه

آردگندم به‌عنوان بهترین آرد در فرآیند تولید نان محسوب می‌شود زیرا وجود گلوتن، شرایط عمل‌آوری خمیر، تخمیرخمیر، کیفیت خمیر و به‌ویژه حجم نان را مطلوب می‌سازد (Daglioglu and Tsan, 2003). مصرف گلوتن در برخی افراد ازجمله بیماران سلیاکی سبب التهاب روده کوچک شده که در نتیجه موجب جذب ناقص مواد ضروری از قبیل آهن،کلسیم و ویتامین‌های محلول در چربی می‌شود (Korus *et al.*, 2009). بیماری سلیاک نوعی ناراحتی مزمن روده‌ای است که با سوء جذب مواد غذایی در روده کوچک، پس از مصرف مواد حاوی گلوتن شامل گندم، جو، جو دوسر و چاودار ایجاد می‌شود. بدین معنی که بیمار نمی‌تواند غذاهای دارای پروتئین گلوتن را مصرف نماید. از عوارض بیماری سلیاک می‌توان به اختلال در واکنش‌های ایمنی، سوء هاضمه، عدم جذب مواد غذایی و ویتامین‌ها، پوکی استخوان، مشکلات عصبی، بیماری صرع و افسردگی اشاره‌کرد (Hernandez and Green, 2006). مهم‌ترین روش درمان بیماری سلیاک، استفاده از رژیم غذایی فاقد گلوتن می‌باشد. ضمن آن‌که بایستی مشتقات غلاتی نظیر گندم، جو و چاودار از رژیم غذایی آن‌ها حذف و با غلاتی نظیر ذرت، برنج و آرد سایر غلات فاقد گلوتن جایگزین گردد (Haboubi *et al.*, 2006; Mary and Niewinski, 2008). نان‌های بدون گلوتن، نان های رژیمی هستند که برای تغذیه بیماران مبتلا به سلیاک به ویژه کودکان ضروری بوده و در تهیه آن‌ها به جای آرد گندم، چاودار، جو، و یولاف از مواد نشاسته‌ای (ذرت، سیب‌زمینی و برنج) و آرد سایر غلات (ارزن، کاساوا، ذرت وگندم سیاه) که فاقدگلوتن هستند، همراه با افزودنی‌هایی مثل صمغ‌ها، آنزیم‌ها، پروتئین‌ها (سویا، تخم‌مرغ و شیر) استفاده می‌شود (Korus *et al.*, 2009). آرد ذرت یکی از جایگزین‌های مناسب آرد گندم در تهیه نان و محصولات پخت بوده که از ارزش غذایی بالا برخوردار است و به

1 و 2- به‌ترتیب دانشیار، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین.
3-استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
(* - نویسنده مسئول: Email: movahhed@iauvaramin.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.50478

دلیل فقدان گلوتن، برای مبتلایان به بیماری سلیاک مناسب می‌باشد (Cheryan, 2001). از لحاظ ارزش غـذایی، آرد ذرت شـامل مقـادیر زیادی مواد معدنی نظیر پتاسیم، فسفر، روی، کلسیم، آهـن و برخـی ویتامین‌ها مثل تیـامین، نیاسـین، E، B_6، پـروتئین زئـین مـی‌باشـد (Sabanis and Tzia, 2009). آرد سیب‌زمینی یکی دیگر از بهتـرین جایگزین‌های آرد گندم در تولید نان بوده و سازگاری مناسـبی بـا آن دارد و امروزه نه تنها در تولید نان بلکـه در تولیـد سـایر محصـولات پخت نظیر کراکر سیب‌زمینی، برخی شیرینی‌ها، کیک‌ها، کلوچـه‌هـا، دونات‌ها و سس‌ها اسـتفاده مـی‌شـود. افـزودن آرد سـیب‌زمینـی بـه فرمولاسیون باعث بهبود کیفیت، افزایش میزان نگهداری آب، حفـظ تازگی، ایجاد طعم خوشایند، بهبود فرآیند تخمیر و بـالا بـردن ارزش غـذایی محصـول مـی‌گـردد (Kototi and Deka, 2010). هیدروکلوئیدها دسته‌ای از افزودنی‌ها می‌باشند که به‌طور گسـترده در صنعت غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند و عموماً به نام صمغ معـروف هستند. هیدروکلوئیدها به‌علت داشتن اثرات مطلوب بـر روی قابلیـت پذیرش محصولات غذایی، معمولاً بـه محصـولات دارای نشاسـته و بدون گلـوتن افـزوده مـی‌شـوند (Kahajdova and Karovicova, 2009). هیدروکلوئیدها در فرمولاسیون نان‌های بدون گلوتن به‌عنوان اجزاء پلیمری عمل کرده و در آب متورم شده و ساختاری معادل شبکه گلوتن در خمیـر گنـدم، ایجـاد مـی‌کننـد و در نتیجـه ویژگـی‌هـای ویسکوالاستیک گلوتن در خمیر نان گندم را تأمین می‌نمایند (Marco *et al.*, 2008). یکی از پر مصرف‌ترین صمغ‌ها در صـنایع غـذایی و نـانوایی، هیدروکسـی‌پروپیـل متیـل سـلولز(HPMC) مـی‌باشـد (Demappa *et al.*, 2008; Rosell *et al.*, 2001). مطالعات نشان داده که کاربرد HPMC در محصولات نانوایی، میزان سـخت شـدن بافت نان را به تعویق انداخته و نیز در مقابل کاهش حجـم خمیـر از محصول محافظت می‌نماید (Rosell *et al.*, 2005). راسل و گوجرال (2004) تاثیر صمغ HPMC را بر کیفیت نان برنج بررسی و گـزارش نمودند که با کاهش مصـرف HPMC مقاومـت خمیـر کـاهش و در حضور آن، ضمن افزایش ویژگـی مـذکور ، میـزان جـذب آب خمیـر افـزایش مـی‌یابـد (Rosell & Gujral, 2004). راسـل و بارسـناس (2005) طی مطالعـاتی عنـوان نمودنـد کـه HPMC در بـه تعویـق انداختن رتروگراداسیون آمیلوپکتین و جلوگیری از بیـاتی محصـولات نانوایی نقش دارد (Rosell & Barcenas, 2005). حال با توجه بـه موارد مطرح شده، تحقیق حاضر به‌منظور تولید نان باگت با مخلوطی مساوی از آرد ذرت و آرد سیب‌زمینـی بـه‌همـراه صـمغ هیدروکسـی پروپیل متیل سلولز انجام شد و در این راسـتا تـاثیر افـزودن سـطوح مختلفی از صمغ مذکور بر خواص کیفی نان‌های باگـت تولیـد شـده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ابتدا مواد اولیه جهت انجام فرآیند پخت نان‌های باگت، شامل آرد ذرت و آرد سیب‌زمینی (کارخانه تولیدکننده‌ی آردهای مذکور، با نـام تجاری برتر، که در کیلومتر 70 جاده قدیم تهران- ساوه و در شهرک پرندک قرار دارد)، صمغ HPMC (شرکت پترو پارس نـوین)، مخمـر نانوایی(شرکت ایران ملاس)، نمک (شرکت هدیـه) و کیسـه‌هـای پلی‌اتیلنی به‌منظور بسته‌بندی نان‌های باگـت، تهیـه شـدند. تیمارهـا شامل مخلوط مساوی از آرد ذرت و آرد سیب‌زمینی بـه‌همـراه 0/25، 0/5، 0/75 و 1 درصد، صمغ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز بودند. در کلیه آزمون‌ها، نمونه شاهد (حاوی مخلوط مسـاوی از آرد ذرت وآرد سیب‌زمینی اما بدون صمغ) با کد C و نمونه‌هـای دارای 0/25، 0/5، 0/75 و 1 درصد صمغ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز بـه‌ترتیـب بـا کدهای H_1، H_2، H_3 و H_4 مشـخص شـدند. آزمـون‌هـای شـیمیایی مختلفی نظیر اندازه‌گیری رطوبت (طبق استاندارد بین‌المللی AACC بـه شـماره 16-۴۴،۲۰۰۳)، خاکسـتر(AACC بـه شـماره 01- 08، 2003) ، پروتئین (AACC به شماره 46-12، 2003)، فیبر (AACC به شماره 10-32، 2003) و pH (AACC به شماره 52-2، 2003) بر روی نمونه‌های آرد ذرت و آرد سیب‌زمینی انجام شد و پس از پخـت نان‌های باگت، این آزمون‌ها بر روی نان‌ها نیز انجام گردید. بـازدهی خمیر و نان هم طبق رابطه‌های 1 و 2 محاسبه شدند تا قدرت خمیر و درصد تخلخل و پوکی نان تعیین گردد (Anonymous, 2003).

$$RD = (W_D / W_F) \times 100 \qquad (1)$$

که در آن:

RD: بازده خمیر (٪) ، W_D: وزن خمیر (آرد + کلیه مواد افزودنی) (g) و W_F: وزن آرد (g) بودند.

$$RB = (W_B / W_F) \times 100 \qquad (2)$$

که در آن:

RB: بازده نان (٪) ، W_B: وزن نان (آرد + کلیه مـواد افزودنـی) (g) و W_F: وزن آرد (g) بودند.

به‌منظور ارزیابی ویژگی‌های ارگانولپتیکی نمونه‌های نان باگت، از آزمـون هـدونیک اسـتفاده گردیـد. در ایـن راسـتا تجزیـه و تحلیـل خصوصیات نان با کاربرد حواس پنجگانه صورت پذیرفت که مـلاک عمل، نظر و تمایل شخصی افراد متخصص و آموزش دیده نسبت به محصول بود. در این تحقیق، نمونه‌های نـان پـس از خنـک شـدن، کدگذاری شدند و توسط 10 ارزیاب آموزش دیده مـورد بررسـی قـرار گرفتند. ارزیابی در روز اول پخت، بر اساس ویژگـی‌هـای نـان نظیـر (حجم، رنگ پوسته، عطر و بو، حفره‌ای و دانـه‌ای بـودن، یکنـواختی پشت و بافت) صورت گرفت که هریک بنا بر اهمیت، از امتیاز خاصی برخوردار بودند. آزمون بیاتی به روش حسی در فواصل زمانی 24، 48 و 72 ساعت پس از پخت درکلیه نمونه‌های نان باگت بـدون گلـوتن

انجام پذیرفت. برای تعیین حجم نمونه‌های نان از روش هنری سایمون استفاده گردید. این دستگاه شامل سه قسمت، تحتانی (محفظه‌ای که دانه‌های کلزا برای صفر کردن و اندازه‌گیری در آن ریخته می‌شود)، میانی یا گردن (برج مندرجی که هر درجه آن 25 سانتی‌متر مکعب است) و فوقانی (محفظه مربع شکل دربدار جهت ریختن دانه‌های کلزا) می‌باشد. برای انجام آزمایش نمونه نان توزین و داخل ظرف قرار داده شد سپس فضای خالی ظرف توسط دانه‌های کلزا پر گردید. در ادامه نان خارج و حجم دانه‌های کلزا یادداشت شد. از اختلاف حجم کل و حجم دانه‌های کلزا، حجم نان به‌دست آمد. آن‌گاه با تقسیم حجم به‌دست آمده به وزن نمونه بر حسب گرم، حجم مخصوص نان بر حسب میلی‌لیتر بر گرم محاسبه‌گردید (Anonymous, 2003). به‌منظور ارزیابی میزان بیاتی (بافت‌سنجی) نمونه‌های نان به روش دستگاهی، از دستگاه اینستران مدل 1140 مجهز به لودسل 5 نیوتنی و پروب استوانه‌ای با قطر 24 میلی‌متر و مطابق استاندارد (AACC به شماره 09- 74، 2003) استفاده گردید. در دستگاه مذکور سرعت حرکت فک متحرک 100 میلی‌متر در دقیقه در نظر گرفته‌شد. برای انجام آزمایش در فواصل زمانی 24، 48 و 72 ساعت پس از پخت، از قسمت مغز نمونه‌های نان، برش‌هایی به ابعاد 2×2 سانتی‌متر و ضخامت 25 میلی‌متر تهیه گردید و پس از استقرار در دستگاه، داده‌های حاصل از مقدار نیروی اعمال شده بر آن‌ها قرائت شد. قابل توجه این‌که میزان فشردگی اعمال شده مطابق روش استاندارد مذکور معادل 40 درصد ضخامت نمونه‌ها بود (Anonymous, 2003).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمون‌ها (غیر از بیاتی به روش حسی و دستگاهی) از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. اما برای آنالیز داده‌های حاصل از آزمون بیاتی به روش حسی و دستگاهی، از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی استفاده گردید همچنین کلیه مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال 1% = α و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 16 انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

ارزیابی نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی آردها

با توجه به جدول 1، آرد ذرت (طبق استاندارد 8151) و آرد سیب‌زمینی (طبق استاندارد 6005) جهت تولید نان مناسب بودند.

جدول 1- نتایج آزمون ویژگی‌های شیمیایی آرد سیب‌زمینی و آرد ذرت مصرفی در تولید نان باگت بدون گلوتن

نوع ماده	رطوبت(٪)	خاکستر(٪)	پروتئین(٪)	فیبر (٪)	pH
آرد سیب‌زمینی	6/54	2/23	8/72	5/98	5
آرد ذرت	12/25	0/55	6/68	1/54	5/3

ارزیابی نتایج حاصل از آزمون بازدهی خمیر نمونه‌ها

با توجه جدول2، افزودن صمغ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز باعث افزایش معنی‌دار بازدهی خمیر در نمونه‌های حاوی صمغ HPMC نسبت به شاهدگردید.

جدول 2- نتایج مقایسه میانگین درصد بازدهی خمیر در نمونه‌های نان باگت بدون گلوتن

ویژگی	H_4	H_3	H_2	H_1	C
درصد بازدهی خمیر	204/8± 1/36[a]	202/6±1/36 [ab]	198/7± 1/36 [b]	192/1 ± 1/36[c]	186/2± 1/36[d]

در هر ردیف میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال1درصداختلاف معنی‌دار ندارند.

C: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی بدون صمغ، H_1: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب‌زمینی با 0/25 درصد صمغ، H_2: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب‌زمینی با 0/5 درصد صمغ H_3: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب‌زمینی با 0/75 درصد صمغ H_4: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب‌زمینی با 1 درصد صمغ

دلیل افزایش بازدهی خمیر در نمونه‌های حاوی صمغ در مقایسه با نمونه شاهد، حضور صمغ HPMC می‌باشد. به‌طور کلی صمغ‌ها ترکیباتی با طبیعت آب‌دوست هستند و همه آن‌ها با آب برهمکنش می‌دهند و سبب کاهش انتشار و پایداری حضور آب در سیستم می‌شوند. صمغ HPMC مصرفی در آب سرد محلول بوده و به سرعت با جذب آب، محلول‌های ویسکوز تولید نمود که نتیجه آن افزایش جذب آب خمیر و بالا رفتن درصد بازدهی خمیر بود (Rosell *et al.*, 2001).

ارزیابی نتایج حاصل از آزمون بازدهی نان نمونه‌ها

با توجه به جدول 3، افزودن صمغ HPMC باعث کاهش درصد میزان بازدهی نان‌های باگت بدون گلوتن حاوی صمغ نسبت به تیمار

شاهد شد. ضمن آن که تیمار شاهد و سپس H_1 دارای بیشترین (عدم تفاوت معنی‌دار با یکدیگر) و تیمار H_4 دارای کمترین میزان بـازدهی نان بودند (P< 0/01).

جدول 3- نتایج مقایسه میانگین درصد بازدهی نان در نمونه نان‌های باگت بدون گلوتن

ویژگی	H_4	H_3	H_2	H_1	C
درصد بازدهی نان	c1/87±158/3	b1/87±165/0	ab1/87±167/7	a1/87±172/3	a1/87±172/7

در هر ردیف میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال1درصداختلاف معنی دار ندارند

C:مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی بدون صمغ، H_1: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/25 درصد صمغ، H_2: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/5 درصد صمغ H_3: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/75 درصد صمغ H_4: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 1 درصد صمغ

دلیل کاهش بازدهی نان در نمونـه‌هـای حـاوی صـمغ، ماهیـت ساختاری صمغ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز می‌باشد کـه توانـایی مناسبی در حفظ و نگهداری گاز دی‌اکسـید کـربن دارد. لـذا در ایـن تحقیق باعث ایجاد بافت پوک با تخلخل بالا گردید و در نهایت سبب تولید نان‌های سبک‌تر نسبت به تیمار شـاهد گشـت (Movahed *et al.*, 2011).

ارزیابی نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی نمونـه‌هـای نـان باگت بدون گلوتن

با توجـه بـه جـدول 4، در میـزان خاکسـتر و پـروتئین اخـتلاف معنی‌داری مشاهده نشد که علت آن مربوط به ساختار صمغ مصرفی می‌باشد. در آزمایش بررسی میزان درصد رطوبت، بـا افـزودن صـمغ HPMC میزان رطوبت نمونه‌ها نسبت به تیمار شاهد (C) به‌طور کمی افزایش یافت که دلیل آن بالا بودن ظرفیت نگهداری آب در ساختار صمغ مصرفی می‌باشـد (Marco *et al.*, 2008). همچنـین افـزودن صمغ HPMC، سبب افزایش میزان فیبر در نمونه‌های حاوی صمغ در مقایسه با تیمار شاهد گردید که دلیل آن ساختار صمغ مصرفی اسـت که نوعی فیبر محلول محسوب می‌شود (Rosell *et al.*, 2005).

جدول 4- نتایج مقایسه میانگین داده‌های حاصل از آزمون شیمیایی در نمونه‌های نان باگت بدون گلوتن (برحسب درصد)

تیمار	رطوبت	خاکستر	پروتئین	فیبر
H_1	30/43 ±0/12^{c}	1/82 ± 0/11^{a}	6/73 ± 0/01 ^{a}	**3/05 ± 0/02^{c}**
H_2	30/71 ±0/12^{c}	1/86 ± 0/11 ^{a}	6/72 ± 0/01 ^{a}	**3/09 ± 0/02^{bc}**
H_3	31/77 ±0/12^{b}	1/88 ± 0/11^{a}	6/72 ± 0/01 ^{a}	**3/13 ± 0/02^{b}**
H_4	32/23 ±0/12^{a}	1/89 ± 0/11^{a}	6/72 ± 0/01 ^{a}	**3/31 ± 0/02^{a}**
C	30/53 ±0/12^{c}	1/69 ± 0/11^{a}	6/70 ± 0/01 ^{a}	**2/87 ± 0/02^{d}**

درهر ستون میانگین هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال1درصداختلاف معنی‌دار ندارند.

C:مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی بدون صمغ، H_1: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/25 درصد صمغ، H_2: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/5 درصد صمغ H_3: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/75 درصد صمغ H_4: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 1 درصد صمغ

ارزیابی ارگانولپتیکی ویژگی‌های خارجی نان باگت بدون گلوتن

با توجه به جدول 5، افزودن صمغ HPMC باعث افزایش میزان حجم ظاهری و بهبود رنگ نمونه‌های نان باگت حاوی صمغ نسـبت به تیمار شاهد (C) گردید اما در ویژگی یکنواختی پشت نمونه‌های نان باگت بدون گلوتن اختلاف معنی‌داری مشاهده نشـد. دلیـل افـزایش حجم ظـاهری در نمونـه‌هـای نـان باگـت حـاوی صـمغ، خاصـیت هیدروفیلی صمغ‌ها می‌باشد که به‌واسطه افـزایش ویسـکوزیته سـبب بهبود نگهداری گاز در خمیر و نان می‌شوند (Rosell *et al.*, 2001). دلیل بهبود رنگ پوسته در نمونه‌های نان باگت حاوی صمغ، افزایش واکنش قهوه‌ای شدن در اثر افزودن صـمغ مـی‌باشـد. زیـرا افـزودن هیدروکلوئیدها با تاثیر بر توزیع آب و افزایش واکنش بین ترکیب ازتی گلیکوزیل آمین و قندهای احیاکننده شدت واکـنش قهـوه‌ای شـدن میلارد را افزایش می‌دهند (Lazaridou *et al.*, 2007).

ارزیابی ارگانولپتیکی ویژگی‌های داخلی نمونه‌های نـان باگـت بدون گلوتن

با توجه به نتایج جدول 6، افزودن صمغ HPMC در سطح 0/75 و 1 درصد وزنی/ وزنی تاثیر مثبتی در ویژگی‌های داخلی نان باگـت داشت.

دلیل افزایش تخلخل نان‌های باگت حاوی صمغ و بهبود حفره‌ای

و دانـه‌ای بـودن آن‌هـا، توانـایی صـمغ HPMC در نگهـداری گـاز دی‌اکسید کربن و افزایش حجم نان‌های تولیدی می‌باشد و همچنین صمغ مذکور به علت جذب آب از خشکی و سـفت شـدن بافـت نـان جلوگیری می‌کند (Rosell *et al.*, 2005). ویژگی صفت عطر وبو در نان به واکنش کاراملیزاسیون و مایلارد وابسته است، در نتیجه امتیاز عطر و بو در نان‌هایی که واکنش‌های قهوه‌ای شدن در آن‌ها به میزان مناسب صورت گرفت، افزایش پیدا نمود و چون صمغ‌هـا در افـزایش واکنش قهوه‌ای شدن مایلارد مؤثر هستند لذا بر روی عطر و بوی نان تولیدی اثر مطلوب داشتند. همچنین افـزایش صـمغ مصـرفی سـبب کاهش خشکی، بهبود تازگی و نرمی بافت نان‌ها گردید که دلیل آن برهمکنش هیدروکلوئیدها با آب و کاهش انتشار آب در خلال پخت و نگهداری بود در نتیجه تاثیر مطلوبی بر بافت نان گذاشت (Rosell *et al.*, 2001).

جدول 5- نتایج مقایسه میانگین ویژگی‌های ارگانولپتیکی خارجی نان باگت بدون گلوتن

تیمار	حجم	رنگ پوسته	یکنواختی پشت
H_1	7 ± 0/39 [ab]	6/33 ± 0/37 [b]	2/66 ± 0/3 [a]
H_2	8 ± 0/39 [a]	6/66 ± 0/37 [b]	2/33 ± 0/3 [a]
H_3	8 ± 0/39 [a]	6/33 ± 0/37 [b]	2/33 ± 0/3 [a]
H_4	8/33 ± 0/39 [a]	8 ± 0/37 [a]	2/66 ± 0/3 [a]
C	6 ± 0/39 [b]	6 ± 0/37 [b]	2 ± 0/3 [a]

درهر ستون میانگین هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال1درصداختلاف معنی دار ندارند.

C: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی بدون صمغ، H_1: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/25 درصد صمغ، H_2: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/5 درصد صمغ H_3: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/75 درصد صمغ H_4: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 1 درصد صمغ

جدول6- نتایج مقایسه میانگین ویژگی‌های ارگانولپتیکی داخلی نان باگت بدون گلوتن

تیمار	حفره‌ای و دانه‌ای بودن	عطر و بو	بافت
H_1	7/33 ± 0/21 [b]	7/66 ± 0/49 [b]	**± 0/52 [a] 11/33**
H_2	7 ± 0/21 [b]	8/33 ± 0/49 [a]	**11 ± 0/52 [a]**
H_3	8 ± 0/21 [a]	9 ± 0/49 [a]	**11 ± 0/52 [a]**
H_4	8 ± 0/21 [a]	9 ± 0/49 [a]	**± 0/52 [a] 11/67**
C	6/33 ± 0/21 [c]	8 ± 0/49 [b]	**± 0/52 [b] 10/67**

درهر ستون میانگین هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال1درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

C:مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی بدون صمغ، H_1: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/25 درصد صمغ، H_2: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/5 درصد صمغ H_3: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/75 درصد صمغ H_4: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 1 درصد صمغ

ارزیابی نتایج میزان بیاتی به روش حسی در نمونه‌هـای نـان باگت بدون گلوتن

با توجه به نتایج جدول 7، طی 24 ، 48 و 72 ساعت پس از پخت نان‌های باگت بدون گلوتن، ارزیاب‌های حسی بالاترین امتیاز در حفظ تازگی بافت نان و در واقع تاخیر در بیاتی را بـه تیمارهـای H_3 و H_4 (حاوی 0/75 و 1 درصد صمغ HPMC) دادند. دلیـل کـاهش میـزان بیاتی نمونه‌های نان باگت حاوی صمغ نسبت به نمونه شاهد، ماهیت ساختمانی و افزایش قابلیت آبگیری صمغ می‌باشد که باعث افـزایش مدت زمان نگهداری نمونه‌ها گردیده است (Rosell *et al.*, 2005).

ارزیابی نتایج حاصل از میزان بیاتی نمونه‌های نان بدون گلوتن به روش دستگاهی

با توجه به نتایج جدول 8، افزودن صمغ HPMC سـبب کـاهش میزان بیاتی در هر سه بازه زمانی 24، 48 و 72 ساعت پس از پخـت در نان‌های باگت حاوی صمغ در مقایسه با تیمار شاهد گردید ضـمن آن که در بازه زمانی 24 و 48 ساعت پس از پخت تیمار H_4 و سپس H_3 به‌ترتیب دارای کمترین و تیمار شاهد دارای بیشترین میزان بیاتی بودند. همچنین بین کلیه تیمارهای حاوی صمغ با تیمار شاهد (فاقـد

صمغ) تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($P< 0/01$).

دلیل کاهش میزان بیاتی نمونه‌های حاوی صمغ، حضور صمغ HPMC مصرفی بود که در افزایش الاستیسیته نان‌های حاصل نسبت به نان شاهد تاثیر داشت ضمن آن که با افزایش سطوح مصرف صمغ مذکور، از میزان بیاتی نان‌های تولیدی کاسته شد لذا مغز نان‌های حاوی صمغ در مقایسه با نان شاهد نرم‌تر گردید (Marco *et al.*, 2008).

گلوتن

با توجه به جدول 9، افزودن صمغ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز باعث افزایش میزان حجم نمونه‌های نان باگت حاوی صمغ نسبت به تیمار شاهد (C)گردید

دلیل افزایش حجم خاصیت هیدروفیلی صمغ مصرفی می‌باشد که در بهبود گسترش خمیر و نگهداری گاز CO_2 مؤثر بوده است (Rosell *et al.*, 2001).

ارزیابی نتایج حاصل از آزمون حجم نمونه‌های نان باگت بدون

جدول 7- نتایج مقایسه میانگین تاثیر متقابل تیمار× زمان بر میزان بیاتی نان‌های باگت بدون گلوتن به روش حسی

زمان(h)	H_4	H_3	H_2	H_1	C
24	$5/33 \pm 0/26^{a}$	$5 \pm 0/26^{ab}$	$5 \pm 0/26^{ab}$	$4/66 \pm 0/26^{b}$	$4/33 \pm 0/26^{bc}$
48	$5 \pm 0/16^{ab}$	$4/66 \pm 0/16^{b}$	$4/33 \pm 0/16^{bc}$	$4 \pm 0/16^{cd}$	$3/66 \pm 0/16^{d}$
72	$4 \pm 0/21^{cd}$	$4 \pm 0/21^{cd}$	$3/66 \pm 0/21^{d}$	$3/33 \pm 0/21^{de}$	$3 \pm 0/21^{e}$

درهر ردیف میانگین هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال1درصداختلاف معنی‌دار ندارند.

C:مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی بدون صمغ، H_1: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/25 درصد صمغ، H_2: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/5 درصد صمغ H_3: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/75 درصد صمغ H_4: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 1 درصد صمغ

جدول 8- نتایج مقایسه میانگین تاثیر متقابل تیمار× زمان بر میزان بیاتی نان‌های باگت بدون گلوتن به روش دستگاهی (برحسب نیوتن)

زمان(h)	H_4	H_3	H_2	H_1	C
24	$7/4 \pm 0/47^{a}$	$8/4 \pm 0/47^{b}$	$8/94 \pm 0/47^{b}$	$18/45 \pm 0/47^{f}$	$23/68 \pm 0/47^{i}$
48	$8/363 \pm 0/47^{a}$	$9/706 \pm 0/47^{bc}$	$10/67 \pm 0/47^{c}$	$19/02 \pm 0/47^{g}$	$26/34 \pm 0/47^{j}$
72	$15 \pm 0/18^{e}$	$15/22 \pm 0/18^{e}$	$13/69 \pm 0/18^{d}$	$21/31 \pm 0/18^{h}$	$28/31 \pm 0/18^{k}$

درهر ردیف میانگین هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال1درصداختلاف معنی دار ندارند.

C:مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی بدون صمغ، H_1: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/25 درصد صمغ، H_2: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/5 درصد صمغ H_3: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/75 درصد صمغ H_4: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 1 درصد صمغ

جدول 9- نتایج مقایسه میانگین میزان حجم درنمونه‌های نان‌های باگت بدون گلوتن (cm^3)

ویژگی	H_4	H_3	H_2	H_1	C
حجم	$220/7 \pm 1/51^{a}$	$213/3 \pm 1/51^{b}$	$206 \pm 1/51^{c}$	$195/3 \pm 1/51^{d}$	**$182/3 \pm 1/51^{e}$**

درهر ردیف میانگین هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال1درصداختلاف معنی دار ندارند.

C:مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی بدون صمغ، H_1: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/25 درصد صمغ، H_2: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/5 درصد صمغ H_3: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 0/75 درصد صمغ H_4: مخلوط مساوی آرد ذرت و سیب زمینی با 1 درصد صمغ

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج آزمون شیمیایی، تیمارهای حاوی1 درصد صمغ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز از بیشترین میزان رطوبت و فیبر نسبت به تیمار شاهد برخوردار بودند. همچنین میزان خاکستر و پروتئین در نمونه‌های حاوی صمغ هیدروکسی پروپیل متیل سلولز نسبت به شاهد افزایش اندکی یافتند اما این تفاوت معنی‌دار نبود. از سوی دیگر تیمار حاوی 1 درصد صمغ از بالاترین و شاهد از کمترین بازدهی خمیر برخوردار بودند. همچنین با افزایش صمغ میزان بازدهی نان نسبت به شاهد کاهش یافت. از سوی دیگر تیمارهای حاوی 1 درصد صمغ از بالاترین امتیاز ارگانولپتیکی نسبت به دیگر تیمارها برخوردار بودند. همچنین با توجه به نتایج آزمون بیاتی به روش حسی و دستگاهی، در فواصل زمانی 24، 48 و 72 ساعت پس از پخت، تیمار حاوی 1 درصد صمغ از کمترین و شاهد از بالاترین میزان بیاتی برخوردار بودند. همچنین تیمار حاوی 1 درصد صمغ از بالاترین و

تیمار شاهد از کمترین حجم برخوردار بودند.

منابع

Anonymous, 2003, AACC Approved methods of analysis of the American association of Cereal Chemist (10th ed.). *American Association of Cereal Chemistry* , Inc.,St Paul.

Cheryan, M. and Shukla, R ., 2001, Zein: The industrial protein from corn. Industrial Crops and Products, 13, 171-192.

Chen , H ., Chen , M .,Lan , Kang, H ., 2009 , Maturation effetsin fish gelatin and HPMC composite gets, *Food Hydrocolloids* 23 , 1756- 1761

Daglioglu, O. and Tasan, M., 2003, Fatty acid composition of traditional fermented and unfermented Turkish corn bread with the emphasis on trans fatty acids. *European Food Research and Technology*, 217, 125-127.

Demappa, T., Chandralekha, F., Rao, K. P. and Illiger, S . R ., 2008, Miscibility studies of HPMC / PVA blends in water by viscosity , density , refractive index and ultrasonic velocity method. *Carbohydrate Polymers*, 74, 779- 782

Haboubi, N, Y.,Taylor, S. and Jones, S., 2006, Celiac disease and oats; a systematic review. *Postgrad Medicine Journal*, 82, 672- 678

Hermandez, L. and Green, P. H., 2006, Extraintestinal manifestaticns of celiac disease. Gastroenterology, 80, 383 -389

Kohajdova, Z . and Karovicova, J., 2009, Application of hydrocolloids az baking improvers. *Chemical Papers*, 63:26-38

Kotoki, D. and Deka, S. C., 2010, Baking loss of bread with special emphasis on increasing water holding capacity. *Journal of Food Science and Technology*, 47(1), 128-131.

Korus, J., Witezalk, M., Ziobro, R. and Juszczak, L., 2009, The impact of resistant starch on characteristics of gluten free dough and beard. *Food Hydrocolloids*, 23, 988- 995

Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Bele, N. and Billiaderis, C . G., 2007, Effects of hydrocolloids on dough Rheology and bread quality parameters in gluten free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79, 1033-1047.

Marco, C. and Rosell, C. M., 2008, Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research Technology*, 227, 1205-1213.

Mary, M . and Niewinski, M. S., 2008, Advances in Celiac Disease and Gluten free Diet . *American Dietetic Association*, 108, 661- 672

Movahed, S. and Amadi Chenarbone, H., 2011, Evalution of organoleptic properties Iranian Lavash Bread . *World Applied Science Journal*, 15(7), 1054 - 1058

Rosell, C. M., Rojas, J. A. and Benedito de Barber, C., 2001, Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids*, 15: 75 -81.

Rosell, C. M. and Barcenas, M. E., 2005, Effect of HPMC addition on the microstructure, quality and aging of wheat beard. *Food Hydrocolloids*, 19:1037-1043.

Sabanis, D. and Tzia, C., 2009, Effect of rice , corn and soy flour addition on characteristics of bread produced from different wheat cultivars. *Food Bioprocess Technology*, 2: 68 -79

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 575-583

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 583-575

Effect of hydroxy propyl methyl cellulose gum on qualitative properties of free gluten baguette bread contain equal proportion of corn flour and potato flour

S. Movahhed[1*], E. Kakaei[2], H. Ahmadi Chenarbon[3]

Received: 2015.10.09
Accepted: 2016.12.18

Introduction: The most important treatment for celiac disease is a gluten-free diet throughout the lifetime of the patient. Corn flour is one of the alternatives for wheat flour in baking of bread and bakery products that are of high nutritional value and because of lack of gluten are suitable for people with celiac disease. Moreover, potato flour is one of the best wheat flour alternatives in bread-making and is consistent with that; and now, not only in production of bread but also in production of other bakery products. Hydrocolloids are a branch of additives which are widely used in food industry. One of the most widely used gum in food industry and bakery is hydroxy propyl methyl cellulose gum, which is a derivative of cellulose. Considering the above mentioned facts; the aim of this study was to prepate baguette bread with a mixture of equal parts of corn and potato flour with hydroxy propyl methyl cellulose gum. In this regard, the effect of different levels of gum on qualitative properties of produced baguette bread was investigated.

Materials and methods: Treatments included an equal mix of corn flour and potato flour with 0.25, 0.5, 0.75, 1% hydroxy propyl methyl cellulose gum were prepared. Different chemical tests such as moisture content determination, ash, proteins, fiber and pH measurement were performed on samples of corn and potato flour and after baking on baguettes bread. Yield of dough and bread was calculated in order to determine the strength of dough, porosity and hollow of bread. To evaluate the organoleptic characteristics of baguette bread samples, the analysis of properties of bread with the five senses were using. Staling test based on sense and instrument method at intervals 24, 48, 72 hours after baking was performed on all samples of gluten-free baguettes. Simon Henry method was used for determining the volume of the sample bread. In order to analyze the results of test, a completely randomized design with three replications was used and the means by Duncan's multiple range test, in probability level a=1% by SPSS software in 16 versions compared.

Results and discussion: According to results, addition of hydroxy propyl methyl cellulose gum causes yield of dough to increase significantly comparing to the control sample. Generally, gums are hydrophilic compoundsand usually they are interacting with water to reduce the spreadability and stability of the presence of water in the system. Also, adding HPMC gum, decreases yield percent of baguette gluten free bread comparing to contrl samples. Reason of diminishing returns of bread samples containing gum is structural nature of HPMC gum that is capable of properly maintaining carbon dioxide. But there was no significant difference in ash and protein that it was for structure of used gum. By adding HPMC gum, water content of samples in compared to C treatment increased due to the high water holding capacity of used gum. Also adding HPMC gum will increase the amount of fiber in samples containing gum compared to instance treatment. Moreover, HPMC gum increases the volume and improve the color appearance of baguette bread samples containing gum in compare to instance treatment (C) but there was no significant difference in uniformity characteristics of back of gluten-free baguettes samples. Its reason is because of gum hydrophilic property which by increasing the viscosity can keep gas in dough and bread. Color improvement of baguette bread samples containing gum is increasing browning reaction because of adding gum. According to the results, HPMC gum at level of 0.75 and 1% of weight had positive impact on internal characteristics of baguette. Increasing porosity of baguette bread containing gum and improving their hole and seeds shape is for gum ability to maintenance of carbon dioxide and increase bread volume, also this gum prevent dry and hardening of bread texture due to water absorption. Aroma of bread is depend on maylard and caramelization reaction, so scent in bread with suitable browning reactions, increased and as gums are effective in increasing browning reactions of maylard so has desired effect on bread aroma. Also more used gum, will reduce water consumption, improve freshness and softening of bread tissue due to the interaction of hydrocolloids with water and reducing water retention during cooking and was thus a positive

1 and 2 Associated Professor and Graduate Student, Department of Food Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Agronomy, Varamin – Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
(Corresponding author email address: movahhed@iauvaramin.ac.ir)

effect on the texture of bread. According to results, adding HPMC gum in level of 0.75 and 1% causes the staling time to reduce in three 24, 48 and 72 hours after cooking baguette bread containing gum (by sensory and device) compare to the treatment C. Furthermore, adding HPMC gum increases the volume of baguette bread samples containing gum compare to the instance treatment (C). Volume increasing is because of hydrophilic properties of gum that improve dough spread and maintenance of CO_2 gas.

Conclusion: According to the results, treatments containing 1% HPMC gum had the highest water content and fiber. The amount of ash and protein in the samples containing hydroxy propyl methyl cellulose to the instance samples had a slight increase, but this difference was not significant. On the other hand treatment containing 1% gum had the highest dough yields and the control sample had the lowest. Also, yields decreased with increasing gum than the control bread. Other treatments containing 1% gum had the highest privilege organoleptic than other treatments. Also according to the staling test results in sensory and device method, at intervals 24, 48 and 72 hours after baking, treatment with 1% gum has the lowest time of staling. Also treatment containing 1% gum had the most volume and the control the lowest one.

Key words: Celiac, Gluten free bread, Hydroxy propyl methyl cellulose.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 584-593

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 593-584

ارزیابی خواص فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم خوراکی کیتوزان حاوی اسانس صمغ بنه

وحید علی‌زاده[1]- حسن برزگر[2*]- بهزاد ناصحی[3]- وحید سمواتی[2]

تاریخ دریافت: 1394/07/21
تاریخ پذیرش: 1394/11/24

چکیده

استفاده از فیلم‌های ضدمیکروب روشی موثر برای کنترل عوامل بیماری‌زا و بهبود کیفیت مواد غذایی است. در این تحقیق، فیلم‌های خوراکی کیتوزان حاوی اسانس صمغ بنه واریته کردیکا در غلظت‌های 0، 0/5، 1 و 2 درصد (حجمی/ حجمی)، تولید شده و خواص فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در غلظت 2 درصد اسانس فیلم‌های کیتوزان، کمترین میزان استحکام‌کششی (13/23 مگاپاسکال) و حلالیت در آب (16/15 درصد) و بیشترین میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب ($1/73\times10^{-10}$ g/m.s.Pa)، تغییرات کلی رنگ (26/75) و کرنش تا نقطه پاره شدن (59/37 درصد) را نشان دادند. اثر مهارکنندگی فیلم‌ها بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی بود. در میان باکتری‌های مورد مطالعه، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین میکروارگانیسم‌ها در برابر اسانس صمغ بنه بودند. همچنین تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی موید نتایج به‌دست آمده در این تحقیق بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس صمغ بنه به‌عنوان یک ماده ضدمیکروب طبیعی، پتانسیل بالایی برای تولید فیلم‌های ضدمیکروب دارد.

واژه‌های کلیدی: کیتوزان، اسانس صمغ بنه، فعالیت ضدمیکروبی، فیلم خوراکی

مقدمه

افزایش رو به رشد ضایعات مواد پلاستیکی و همچنین بازیافت مشکل اکثر این مواد، صنایع غذایی و بسته‌بندی را به توسعه مواد بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر[3]، ترغیب نموده است (Tharanathan, 2003). در سال‌های اخیر، فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به دلیل داشتن مزایایی از جمله تجدیدپذیر بودن و سازگاری با محیط زیست[4]، مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند (Salmieri & Lacroix, 2006). بسته‌بندی‌های زیست‌سازگار بر پایه فیلم‌های خوراکی[5]، عمدتا از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و چربی‌ها ساخته می‌شوند. از بین پلی‌ساکاریدها، کیتوزان به دلیل توانایی تشکیل فیلم و خصوصیات عالی مکانیکی، فیزیکی و ضدمیکروبی، منشاء تحقیقات بسیاری در صنعت غذا بوده است (Peng & Li, 2014). کیتوزان یک پلی ساکارید خطی است که از استیل‌زدایی کیتین به دست می‌آید و پس از سلولز فراوانترین پلی‌ساکارید موجود در طبیعت می‌باشد (Aider, 2010). کیتوزان به دلیل وجود گروه‌های آمینی با بار مثبت دارای فعالیت ضدمیکروبی می‌باشد. این گروه‌های آمینی با غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها که دارای بار منفی است واکنش می‌دهند و به دنبال آن نشت اجزاء پروتئینی و درون‌سلولی میکروارگانیسم اتفاق می‌افتد (Dutta و همکاران، 2009). قابلیت فیلم‌های تجدیدپذیر به عنوان حامل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و سایر عوامل فعال[6] به منظور کنترل عوامل بیماری‌زا، بهبود کیفیت و افزایش مدت‌ماندگاری مواد غذایی کاربردهای بسیاری را برای آن‌ها در صنایع بسته‌بندی مهیا نموده است (Cha و همکاران، 2002). از سوی دیگر بیماری‌های ایجاد شده توسط میکروارگانیسم‌ها در زنجیره‌های عرضه موادغذایی، تهدیدی جدی برای سلامت عموم مردم به حساب می‌آید (De Moura و همکاران، 2012).

از این رو در دهه‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای در زمینه‌ی استفاده از بسته‌بندی‌های فعال صورت گرفته است. مهمترین ترکیباتی که در تولید بسته‌بندی‌های فعال استفاده می‌شوند شامل جاذب‌های اکسیژن، دی‌اکسید کربن، رطوبت، عوامل آزادکننده اتانل و مواد ضدمیکروب می‌باشد (Coma، 2008). مواد ضدمیکروب طبیعی که به‌صورت گسترده در بسته‌بندی‌های فعال استفاده

1، 2 و 3- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی‌ارشد، استادیار و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.
(* - نویسنده مسئول: Email: barzegarha@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.50541

3 Biodegradable
4 Biocompatible
5 Edible film
6 Active agent

می‌شوند شامل آنزیم‌های ضدمیکروب، باکتریوسین‌ها، اسانس‌ها و ترکیبات فنولی می‌باشند. استفاده از اسانس‌ها به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروب طبیعی در مقابل طیف گسترده‌ای از پاتوژن‌ها توجه زیادی را در صنایع غذایی به خود معطوف نموده است (Burt، 2004).

بنه (*Pistacia atlantica*) درختی از گونه درختان خانواده آنکاردیاسه[1] است. در ایران سه واریته کابولیکا[2]، موتیکا[3] و کردیکا[4] برای بنه شناسایی شده است که در مجموع یک میلیون و دویست هزار هکتار از جنگل‌های شرق، غرب و مرکز ایران توسط دو واریته موتیکا و کردیکا پوشیده شده است (Hatamnia و همکاران، 2014). اسانس صمغ (رزین) درخت بنه فعالیت ضدقارچی و ضدمیکروبی خوبی را از خود نشان داده است (Hosseini و همکاران، 2013). اثر ضدمیکروبی اسانس صمغ بنه بدلیل وجود دو ترکیب آلفاپینن[5] و بتاپینن[6] می‌باشد (Barrero و همکاران، 2005). مطالعات گوناگون نشان داده‌اند که افزودن اسانس‌ها به فیلم کیتوزان باعث بهبود ویژگی‌های فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم‌های حاصل می‌شود. در یکی از پژوهش‌های صورت گرفته در این زمینه، Ojagh و همکاران (2010) نشان دادند که استفاده از اسانس دارچین در فیلم کیتوزان باعث بهبود فعالیت ضدمیکروبی و همچنین بهبود برخی ویژگی‌های فیزیکی فیلم کیتوزان می‌گردد. در پژوهشی دیگر، Sánchez-González و همکاران (2010) نیز گزارش کردند که افزودن اسانس ترنج به فیلم‌های بر پایه کیتوزان، اثر ضدمیکروبی و ضدقارچی فیلم‌های حاصله را بهبود می‌دهد. با توجه به بررسی منابع انجام شده، تاکنون پژوهشی در مورد تاثیر اسانس صمغ بنه بر خصوصیات فیلم‌های خوراکی صورت نگرفته است. از این رو، هدف از پژوهش حاضر، بررسی ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی، ضدمیکروبی و ریزساختار فیلم‌های خوراکی بر پایه‌ی کیتوزان حاوی اسانس صمغ بنه بود.

مواد و روش‌ها

مواد

کیتوزان با درجه استیل‌زدایی[7] 85-75 درصد از شرکت سیگما و صمغ درخت بنه از شرکت سقزسازی کردستان تهیه شدند. اسید استیک، گلیسرول، توئین 80، سدیم کلرید و کلسیم کلرید از شرکت مرک آلمان خریداری گردید. باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *اشریشیاکلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* بودند و همگی از دانشکده علوم‌دامی و صنایع غذایی دانشگاه منابع طبیعی و کشاورزی رامین خوزستان تهیه گردیدند. محیط کشت‌های مولر هینتون براث[8] و مولر هینتون آگار[9] نیز از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

تهیه‌ی اسانس صمغ بنه

جهت استخراج اسانس صمغ بنه از روش تقطیر با آب و دستگاه اسانس‌گیری کلونجر استفاده گردید. برای این کار 100 گرم از صمغ بنه به بالن کلونجر منتقل شد و 800 میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. عملیات اسانس‌گیری 3 ساعت ادامه یافت. سپس اسانس به شیشه تیره منتقل و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

تهیه فیلم

محلول کیتوزان 2 درصد (وزنی/ حجمی)، با انحلال 2 گرم پودر کیتوزان در 100 میلی‌لیتر محلول اسید استیک 1 درصد (حجمی/ حجمی) در دمای 90 °C و با سرعت 1200 دور در دقیقه تهیه گردید. پس از 20 دقیقه کیتوزان در استیک اسید به‌طور کامل حل شد. در این مرحله گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده (به میزان 30 درصد وزن کیتوزان) به محلول اضافه شد و هم‌زدن در دمای 60°C به مدت 20 دقیقه ادامه یافت. در مرحله بعد، توئین 80 به میزان 0/2 درصد (حجمی/ حجمی) از اسانس، به‌عنوان امولسیفایر، به محلول اضافه گردید و سپس به مدت 30 دقیقه در دمای 40 °C عمل همزدن آرام صورت گرفت تا امولسیفایر به‌طور یکنواخت درون محلول پخش شود. سرانجام اسانس صمغ بنه در سه سطح غلظتی 0/5، 1 و 2 درصد به محلول کیتوزان اضافه شد. سپس محلول با 13500 دور در دقیقه به مدت دو دقیقه با استفاده از دستگاه هموژنایزر التراتوراکس، به‌هم زده شد. به‌منظور خروج حباب‌های هوا محلول حاصل به کمک پمپ خلا هواگیری گردید. در ادامه، محلول تشکیل‌دهنده فیلم بر روی ظروف پلکسی‌گلاس ریخته و در دمای محیط به مدت 72 ساعت خشک شد و فیلم‌ها پس از خشک شدن از سطح ظرف جداسازی شدند. قبل از انجام آزمایش‌های مربوطه، فیلم‌ها داخل دسیکاتور حاوی محلول اشباع نیترات منیزیم (رطوبت نسبی 53 درصد) به مدت 72 ساعت نگهداری شدند (Abdollahi و همکاران، 2012).

1 Anacardiaceae
2 Cabulica
3 Mutica
4 Kurdica
5 α-pinene
6 β-pinene
7 Degree of Deacetylation
8 Mueller–Hinton Broth
9 Mueller–Hinton agar

ریزساختار

بررسی ریزساختار نمونه‌های فیلم بوسیله یک میکروسکوپ الکترونی اسکنی[1] (KYKY–EM3200، چین) صورت پذیرفت. به‌منظور بررسی تاثیر افزودن اسانس بنه بر روی ریزساختار نمونه‌های فیلم تولید شده، تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح و سطح‌مقطع فیلم‌ها تهیه گردید. قبل از تصویربرداری، فیلم‌ها با لایه‌ای از طلا پوشانده شدند. تصویربرداری از نمونه‌ها با شتاب ولتاژ 20 کیلووات و در بزرگنمائی‌های مختلف صورت گرفت.

اندازه‌گیری ضخامت

برای تعیین ضخامت نمونه‌ها از میکرومتر دیجیتال با دقت نزدیک به 0/01 میلی‌متر در حداقل 10 نقطه تصادفی هر فیلم استفاده شد. میانگین ضخامت محاسبه شده و در تعیین خواص مکانیکی و نفوذپذیری به بخار آب استفاده گردید.

اندازه‌گیری حلالیت در آب

ابتدا تکه‌های فیلم (با ابعاد 4× 1 سانتی‌متر مربع) در آون با دمای 105 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت به‌منظور رسیدن به یک وزن ثابت قرار گرفتند. پس از آن فیلم‌های خشک شده در 50 میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور و در حالی که به‌صورت مقطعی هم‌زده می‌شد، در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 6 ساعت قرار گرفتند. در نهایت تکه‌های فیلم را به‌وسیله کاغذ صافی از آب جدا کرده و پس از خشک کردن در دمای 105 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت، توزین شدند. درصد حلالیت فیلم‌ها از رابطه 1 محاسبه گردید (Zolfi و همکاران، 2014).

() 100× (وزن خشک اولیه/ (وزن خشک نهایی- وزن خشک اولیه))= درصد حلالیت

آزمون نفوذپذیری نسبت به بخار آب

سرعت انتقال بخار آب مطابق روش ASTM E96-95 اندازه‌گیری شد. برای این کار از فنجانک‌های مخصوصی با قطر داخلی 3 cm و ارتفاع 3/5 cm استفاده گردید. ابتدا درون ظروف شیشه‌ای کلرید کلسیم بدون آب ریخته شد و سپس سطح فنجانک‌ها به‌وسیله فیلم و با استفاده از گریس و گیره فلزی پوشانده شد. فنجانک‌ها درون دسیکاتور حاوی محلول اشباع کلرید سدیم قرار گرفتند. محلول اشباع کلرید سدیم در دمای 25 درجه سانتی‌گراد رطوبت 75 درصد ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت فیلم در دمای 25 درجه سانتی‌گراد فشار بخاری معادل 1753/55 پاسکال ایجاد می‌کند. تغییرات وزن فنجانک‌ها در طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت 0/0001 گرم اندازه‌گیری شد. با رسم منحنی تغییرات وزن نسبت به زمان، یک خط راست بر حسب (R^2>0/99) حاصل شد. سرعت انتقال بخار آب[2](WVPR) از تقسیم تقسیم شیب خط رسم شده بر سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، به‌دست آمد. نفوذپذیری به بخار آب (g/m.s.pa) از رابطه 2 محاسبه گردید.

$$WVP = \frac{WVTR \times X}{\Delta P} \qquad (2)$$

در این معادله ΔP: اختلاف فشار جزئی بین درون و بیرون فنجانک (پاسکال)، X: ضخامت فیلم (متر) است.

اندازه‌گیری خواص مکانیکی

مقاومت‌کششی[3] و کرنش تا نقطه شکست[4] با استفاده از دستگاه سنجش بافت (Stable Micro System[5]، مدل TA.XT.PLUS، انگلستان) و طبق استاندارد ASTM D882-02 اندازه‌گیری شد. ابتدا نمونه‌های فیلم به مدت 72 ساعت در رطوبت نسبی 53 درصد که توسط محلول اشباع نیترات منیزیم ایجاد شده بود قرار گرفتند. سپس، نمونه‌های فیلم با ابعاد 6×1 سانتی‌متر مربع بریده شد و در بین دو فک دستگاه قرار گرفتند. فاصله اولیه بین دو فک دستگاه 40 میلی‌متر و سرعت حرکت فک بالایی 50 میلی‌متر بر دقیقه بود. مقاومت‌کششی و کرنش تا نقطه شکست (میزان افزایش طول تقسیم بر طول اولیه ضرب در 100) از روی منحنی‌های نیرو/ تغییر شکل به‌دست آمدند. مقاومت‌کششی فیلم‌ها از رابطه 3 محاسبه گردید.

(3) (ضخامت فیلم × عرض فیلم/ حداکثر نیرو در لحظه پاره شدن) = مقاومت‌کششی

اندازه‌گیری رنگ

اندازه‌گیری پارامترهای رنگی با استفاده از رنگ‌سنج[6] سری CR-400، ساخت ژاپن انجام گرفت. شاخص L^*: روشنایی نمونه (0 = سیاه و 100 =سفید)، شاخص a^*: قرمزی نمونه (60- =سبز و 60+ = قرمز) و شاخص b^*: زردی نمونه (60- =آبی و 60+ =زردی) در سه تکرار صورت گرفت. اختلاف رنگ کل (ΔE) و شاخص سفیدی (WI) نیز طبق روش Abdollahi و همکاران (2012) محاسبه شدند (معادله‌های 4 و 5).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \qquad (4)$$

1 Scanning Electron Microscopy

2 Water Vapor Transmission Rate (WVTR)
3 Tensile Strength
4 Strain to Break
5 Texture Analyzer
6 Chroma meter

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L*)^2 + a*^2 + b*^2} \quad (5)$$

بررسی فعالیت ضدمیکروبی

برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها از روش انتشار آگار[1] استفاده شد. نمونه‌های فیلم با استفاده از یک قالب به دیسک‌هایی به قطر 10 میلی‌متر تبدیل شدند. قبل از قرار دادن دیسک‌ها روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از 100 میکرولیتر محیط کشت مایع محتوای تقریبا 10^8 CFU/mL از هر کدام از باکتری‌های مورد آزمایش صورت گرفت. دیسک‌ها در شرایط کاملا استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار قرار گرفتند و در ادامه به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. اختلاف قطر هاله‌های تشکیل شده از قطر دیسک‌ها به‌عنوان شاخص فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها در نظر گرفته شد. در مواردی که هاله‌ای تشکیل نشده بود یعنی فعالیت ضدمیکروبی وجود نداشت، اختلاف مساحت برابر صفر در نظر گرفته شد. برای اطمینان از رشد یکنواخت باکتری‌ها بر سطح پلیت برای هر کدام از باکتری‌های مورد آزمایش یک پلیت کشت داده شده فاقد فیلم، در نظر گرفته شد. همچنین برای اطمینان از عدم آلودگی محیط‌های کشت از یک پلیت فاقد باکتری استفاده گردید (Dashipour و همکاران، 2015).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

همه آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شدند. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS Version 8.2, SAS institute Inc., Cary, NC) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد انجام شد.

نتایج و بحث

مطالعه ریزساختار (مورفولوژی)

مطالعه ریزساختار ماتریس فیلم به درک بهتر مکانیسم انتقال بخار آب، ویژگی‌های مکانیکی و نوری آن کمک می‌کند. در شکل 1 تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح و سطح مقطع فیلم‌های کیتوزان نشان داده شده است. فیلم کیتوزان خالص دارای ریزساختار پیوسته، صاف و فشرده‌ای می‌باشد که نشان‌دهنده تشکیل یک ماتریس منظم است. افزودن اسانس منجر به افزایش زبری و کاهش پیوستگی فیلم‌های کیتوزان شده است که این اثر می‌تواند به ساختار بیرون‌زده فیلم، همانطور که بوسیله افزایش ضخامت فیلم‌ها نشان داده شده است و همچنین آرایش و قرار گرفتن ملکول‌های بسپار در طول تشکیل فیلم که ممکن است به‌صورت‌های مختلف شکل گیرد، نسبت داده شود (Ahmad و همکاران، 2012). فیلم حاوی 2 درصد اسانس دارای بافت نرم و ساختاری اسفنج‌مانند می‌باشد که حفره و سوراخ در سراسر سطح مقطع فیلم مشهود است. وجود حفره و تخلخل در مقطع عرضی فیلم در ارتباط با فراریت اسانس می‌باشد. در حقیقت این حفره‌ها، فضاهای پر شده توسط اسانس هستند که در طول خشک کردن فیلم از سطح فیلم تبخیر شده است. افزودن اسانس به بستر فیلم سبب تشکیل یک ساختار ناهمگن شده است که در آن قطره‌های اسانس در شبکه پیوسته پلی‌ساکاریدی قرار گرفته‌اند (Jouki و همکاران، 2014). این ساختار نفوذپذیری به بخار آب بالا و استحکام‌کششی پایین فیلم حاوی 2 درصد اسانس نسبت به فیلم شاهد را توجیه می‌کند. Sánchez-González و همکاران (2009) در مورد فیلم هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز حاوی اسانس درخت چای نتایج مشابهی مشاهده نمودند.

ضخامت

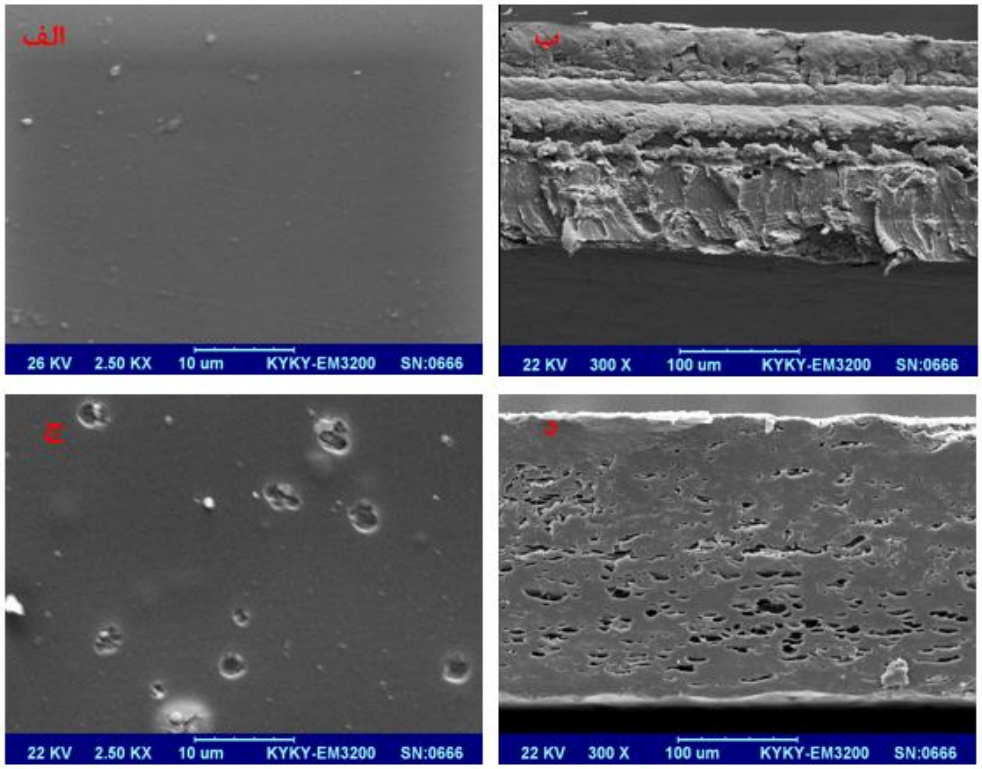
تاثیر افزودن اسانس بنه بر ضخامت فیلم‌های کیتوزان در جدول 1 نشان داده شده است. افزودن اسانس بنه سبب افزایش معنی‌داری در ضخامت فیلم‌ها نسبت به فیلم شاهد شد. ضخامت فیلم‌ها در دامنه 0/131 تا 0/185 میلی‌متر قرار داشتند. با افزایش مقدار اسانس، ضخامت فیلم‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش ضخامت را می‌توان به محبوس شدن ریزقطره‌های اسانس در فیلم کیتوزان نسبت داد که منجر به تشکیل فیلم با ماتریس نرم و ساختار بیرون‌زده می‌شود و متعاقب آن ضخامت فیلم‌های تولید شده افزایش پیدا می‌کند (Dashipour و همکاران، 2015 و Ahmad و همکاران، 2012). نتایج حاصل از تحقیق Shojaee-Aliabadi وهمکاران (2013) بر فیلم کاپا-کاراگینان حاوی اسانس مرزه با نتایج این تحقیق همخوانی داشت

درصد حلالیت

در جدول 1 درصد حلالیت فیلم‌های تولید شده نشان داده شده است. فیلم شاهد کیتوزان حلالیت کمی در آب (کمتر از 23 درصد) داشت. نتایج مشابهی برای حلالیت در آب فیلم‌های کیتوزان توسط Garcí a و همکاران (2004) گزارش شده است. با افزایش مقدار اسانس حلالیت به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. افزودن اسانس بنه در سطوح 1 و 2 درصد منجر به کاهش حلالیت در آب فیلم‌های کیتوزانی به ترتیب به میزان 18 درصد و 28 درصد شد. این پدیده ناشی از پیوندهای عرضی تشکیل شده بین ترکیبات اسانس با گروه-های آمیدی و استری کیتوزان بود (Ojagh و همکاران، 2010).

1 Agar Diffusion Method

ایجاد اتصالات سراسری در فیلم کیتوزان، منجر به کاهش گرایش فیلم کیتوزان به آب شده و فیلمی با حلالیت کمتر در آب تولید می‌شود. نتایج مشابهی توسط Abdollahi و همکاران (2012) در مورد فیلم‌های کیتوزان/ رس حاوی اسانس رزماری مشاهده شد. نتایج حاصل از پژوهش Atef و همکاران (2015) هم دلالت بر کاهش حلالیت در آب فیلم‌های نانوکامپوزیت آگار با افزودن اسانس مرزه دارد که دلیل آن را ماهیت آبگریز اسانس و برهمکنش بین ترکیبات اسانس و گروه‌های هیدروکسیل بسپار نسبت دادند.



شکل 1- تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح و مقطع عرضی فیلم‌های کیتوزان (الف) و (ب) فیلم شاهد، (ج) و (د) فیلم حاوی 2 درصد اسانس صمغ بنه

جدول 1- داده‌های حاصل از اندازه‌گیری خواص فیزیکی فیلم کیتوزان حاوی اسانس صمغ بنه

میزان اسانس (٪)	ضخامت (mm)	حلالیت در آب (%)	نفوذپذیری به بخار آب ($g/msPa\times10^{-10}$)	میزان کشش (%)	مقاومت کششی (MPa)
0	0/131 ±0/01[d]	22/46±0/73 [a]	1/04 ±0/05[c]	49/05±1/63[c]	21/22±1/97[a]
0/5	0/153 ±0/01[c]	21/19 ±1/22[a]	1/12 ±0/06[c]	50/36±2/98[c]	20/09±1/40[a]
1	0/167±0/01[b]	18/47 ±0/53[b]	1/35 ±0/09[b]	55/25±2/95[b]	17/04±1/26[b]
2	0/185±0/01[a]	16/15±0/54[c]	1/73 ±0/09[a]	59/37±2/49[a]	13/23±1/35[c]

*: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد در آزمون دانکن است.

نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های کیتوزان حاوی غلظت‌های مختلف اسانس بنه در جدول 1 نشان داده شده است. WVP برای فیلم کیتوزان شاهد $1/04 \times 10^{-10}$ g/m.s.Pa بود و با افزایش غلظت اسانس، WVP فیلم‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. با افزایش محتوای اسانس به 2 درصد، WVP از $1/04\times10^{-10}$ به $1/73\times10^{-10}$g/m.s.Pa افزایش یافت. اگرچه افزودن اسانس به بستر فیلم باعث افزایش آبگریزی فیلم می‌شود، اما وجود اسانس در فیلم باعث افزایش عبور بخار آب شد. این اثر می‌تواند به کاهش پیوستگی بستر پلیمر در حضور اسانس نسبت داده شود. نتایج

مشابهی توسط Bonilla و همکاران (2012) در مورد فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس‌های آویشن و ریحان مشاهده شد. Jouki و همکاران (2014) هم نتایج مشابهی در مورد فیلم‌های موسیلاژ دانه به محتوای اسانس پونه کوهی به‌دست آوردند. آن‌ها گزارش کردند که WVP از $7/62\times10^{-11}$ در فیلم شاهد به $17/56\times10^{-11}$ g/m.s.Pa در فیلم حاوی 2 درصد اسانس پونه کوهی افزایش یافت.

خواص مکانیکی

در جدول 1 نتایج مقاومت‌کششی و درصد کرنش در نقطه شکست فیلم‌های کیتوزان مشاهده می‌شود. مقاومت‌کششی فیلم شاهد کیتوزان 21/22 مگاپاسکال بود. مقاومت‌کششی فیلم‌های حاوی اسانس نسبت به فیلم کیتوزان خالص ضعیف‌تر بود بطوریکه کمترین میزان مقاومت‌کششی در فیلم کیتوزان حاوی 2 درصد اسانس بنه به میزان 13/23 مگاپاسکال مشاهده شد. این یافته‌ها منطبق با نتایج Shen و Kamdem (2015) هنگام افزودن اسانس به محلول تشکیل‌دهنده فیلم کیتوزان بود. این امر را می‌توان به جایگزینی جزئی پیوندهای قوی پلیمر/ پلیمر کیتوزان با پیوندهای ضعیف پلیمر/ روغن در شبکه فیلم در حضور اسانس نسبت داد که ممکن است پیوستگی شبکه پلیمر را کاهش دهد و به دنبال آن کاهش مقاومت‌کششی فیلم‌ها صورت گیرد (Shojaee-Aliabadi و همکاران، 2013). در مقابل، با افزایش مقدار اسانس بنه از 0 تا 2 درصد، مقادیر درصد کرنش در نقطه شکست از 49/05 تا 59/37 افزایش یافت. این پدیده را می‌توان به اثر پلاستی‌سایزری اسانس بنه نسبت داد که باعث افزایش کشش‌پذیری فیلم می‌شود. Hosseini و همکاران (2015) هم با افزودن اسانس پونه کوهی به فیلم‌های بر پایه کیتوزان و ژلاتین مشاهده کردند که درصد ازدیاد طول با افزایش محتوای اسانس افزایش می‌یابد.

رنگ‌سنجی

تاثیر افزودن اسانس بنه بر روی پارامترهای رنگی (L^*, a^*, b^*)، اختلاف رنگ کل (ΔE) و شاخص شفافیت(WI) در جدول 2 نشان داده شده است. فیلم‌های بدون اسانس، روشنتر (میزان L^* بالاتر) بودند. با افزایش غلظت اسانس از صفر به 2 درصد، میزان L^* فیلم‌ها از 87/05 تا 79/22 کاهش یافت، همچنین پارامتر a^* از 1/88- تا 4/43- کاهش یافت اما پارامتر b^* از 7/28 تا 24/04 افزایش یافت. ΔE، که نشان‌دهنده درجه اختلاف رنگ کل با پلیت رنگی استاندارد می‌باشد، با افزودن اسانس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. WI که درجه‌ی شفافیت فیلم را نشان می‌دهد با افزودن اسانس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. فیلم‌های حاوی اسانس ظاهری متمایل به زرد داشتند که افزایش در مقادیر ΔE و b^* و کاهش مشاهده شده در مقادیر L^*، a^* و WI بیانگر این ظاهر زرد رنگ می‌باشد. این پدیده را می توان به ترکیبات فنولی موجود در اسانس نسبت داد که در طول موج‌های پایین توانایی جذب نور دارند (Shojaee-Aliabadi و همکاران، 2013). در تحقیقی که در آن از اسانس پونه کوهی در تهیه فیلم‌های خوراکی بر پایه موسیلاژ دانه به استفاده شده بود نتایج مشابهی بدست آمده است (Jouki و همکاران، 2014).

خواص ضدمیکروبی

اثر ضدمیکروبی کیتوزان به فاکتورهای زیادی از قبیل درجه دی استیلاسیون، وزن ملکولی، شرایط تشکیل فیلم، pH، دما و ... بستگی دارد. کیتوزان با درجه دی استیلاسیون بالا و وزن ملکولی پایین، فعالیت ضدمیکروبی بالایی دارد که دلیل آن افزایش حلالیت و افزایش چگالی بار مثبت است که منجر به تخریب غشای سلولی باکتری‌ها می‌شود. یکی از دلایل نداشتن اثر ضدمیکروبی کیتوزان در پژوهش حاضر شاید درجه دی استیلاسیون پایین کیتوزان باشد. همچنین ذکر این نکته ضروریست با وجود آنکه کیتوزان دارای اثر ضدمیکروبی است اما در برخی از پژوهش‌ها کیتوزان بدون هیچ افزودنی اثر ضد میکروبی از خود نشان نداده است (Ojagh و همکاران (2010) و Abdollahi و همکاران، 2012). فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس بنه در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و منفی در جدول 3 نشان داده شده است. فیلم کیتوزان خالص و فیلم حاوی 0/5 درصد اسانس بنه در مقابل تمام باکتری‌های مورد مطالعه اثر بازدارندگی نشان ندادند. فیلم کیتوزان حاوی 1 درصد اسانس بنه در برابر *اشریشیاکلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* موثر نبود اما اثر بازدارندگی ضعیفی را بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* نشان داد. با افزایش غلظت اسانس، خاصیت ضدمیکروبی فیلم افزایش یافت. فیلم کیتوزان حاوی 2 درصد اسانس بنه علیه تمام باکتری‌های مورد آزمایش موثر بود و بیشترین اثر بازدارندگی را بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد

در بین باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش *استافیلوکوکوس اورئوس* با ناحیه بازداری 49/67 میلی‌متر مربع حساسترین و *سالمونلا تیفی‌موریوم* با ناحیه بازداری 12/48 میلی‌متر مربع مقاوم‌ترین میکروارگانیسم در برابر اسانس بنه بودند. فعالیت ضدمیکروبی اسانس صمغ بنه ناشی از وجود دو ترکیب آلفاپینن و بتاپینن می‌باشد (Barrero و همکاران، 2005). Ghalem و Mohamed(2009) گزارش کردند که اسانس صمغ بنه قابلیت مهار رشد به ترتیب *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس پیوژنز* را دارد در حالی که بر *اشریشیاکلی* اثر چندانی ندارد.

جدول 2- پارامترهای مربوط به رنگ فیلم کیتوزان حاوی اسانس بنه

میزان اسانس (٪)	L*	a*	b*	ΔE	WI
0	87/05±0/35[a]	-1/88 ±0/08[a]	7/28 ±0/38[c]	9/26±0/42[c]	85/02±0/42[a]
0/5	85/28 ±1/15[b]	-3/24±0/64[b]	12/46 ±3/68[b]	14/03±3/48[b]	80/38±3/33[b]
1	81/01±0/46[c]	-4/11±0/03[c]	22/27± 0/75[a]	24/32±0/86[a]	70/40±0/85[c]
2	79/22±0/74[d]	-4/43±0/06[c]	24/04 ±1/24[a]	26/75±1/42[a]	67/96±1/40[c]

*: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد در آزمون دانکن است.

جدول 3- اثر ضدمیکروبی فیلم کیتوزان حاوی اسانس صمغ بنه

	ناحیه بازدارندگی (میلی‌متر مربع)			
میزان اسانس (٪)	استافیلوکوکوس اورئوس	باسیلوس سرئوس	اشریشیاکلی	سالمونلا تیفی‌موریوم
0	0/00[c]	0/00[c]	0/00[b]	0/00[b]
0/5	0/00[c]	0/00[c]	0/00[b]	0/00[b]
1	22/58±1/76[b]	15/63 ±0/63[b]	0/00[b]	0/00[b]
2	49/67±3/02[a]	41/96±1/40[a]	21/12±1/87[a]	12/49±1/57[a]

*: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد در آزمون دانکن است.

انسانس‌ها معمولا در برابر باکتری‌های گرم مثبت موثرتر از باکتری‌های گرم منفی عمل می‌کنند (Ahmad و همکاران، 2012). این اثر ممکن است به دلیل وجود غشای خارجی (Outer Membrane) نسبتا غیرقابل نفوذی باشد که اطراف باکتری‌های گرم منفی را احاطه کرده است (Phillips & Fisher، 2006)

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس صمغ بنه به‌عنوان یک ماده ضدمیکروب طبیعی می‌تواند در تولید فیلم‌های فعال مورد استفاده قرار گیرد. افزودن اسانس بنه به فیلم کیتوزان، مقاومت کششی، حلالیت در آب و شفافیت فیلم‌ها را به‌طور معنی‌داری کاهش داد اما درصد ازدیاد طول، نفوذپذیری به بخار آب افزایش پیدا کرد. فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها روی باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس*) بیش از باکتری‌های گرم منفی (*اشریشیاکلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم*) بود. همچنین نتایج تصاویر میکروسکوپ الکترونی موید نتایج به‌دست آمده برای آزمون‌های مکانیکی و نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها می‌باشد.

منابع

Abdollahi, M., Rezaei, M. & Farzi, G., 2012, A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan, *Journal of Food Engineering*, 111(2), 343-350.

Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T. & Agustini, T. W., 2012, Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils, *Food Hydrocolloids*, 28(1), 189-199.

Aider, M., 2010, Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review, LWT-*Food Science and Technology*, 43(6), 837-842.

ASTM., 1995, Standard test methods for water vapor transmission of material, E96-95, Annual book of ASTM, Philadelphia: *American Society for Testing and Materials*.

ASTM., 2002, Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, In Annual book of ASTM standards designation D882, Philadelphia, PA: *American Society for Testing and Materials*.

Atef, M., Rezaei, M., & Behrooz, R., 2015, Characterization of physical, mechanical, and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil, *Food Hydrocolloids*, 45, 150-157.

Barrero, A. F., Herrador, M. M., Arteaga, J. F., Akssira, M., Mellouki, F., Belgarrabe, A. & Blázquez, M. A., 2005, Chemical composition of the essential oils of Pistacia atlantica Desf, *Journal of Essential Oil Research*, 17(1), 52-

54.
Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M. & Chiralt, A., 2012, Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films, *Food Hydrocolloids*, 26(1), 9-16.
Burt, S., 2004, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
Cha, D. S., Choi, J. H., Chinnan, M. S. & Park, H. J., 2002, Antimicrobial films based on Na-alginate and κ-carrageenan, LWT-*Food Science and Technology*, 35(8), 715-719.
Coma, V., 2008, Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat based products, *Meat Science*, 78(1-2), 90-103.
Dashipour, A., Razavilar, V., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., German, J. B., Ghanati, K. & Khaksar, R., 2015, Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing Zataria multiflora essential oil, *International journal of biological macromolecules*, 72, 606-613.
De Moura, M. R., Mattoso, L. H. & Zucolotto, V., 2012, Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging, *Journal of Food Engineering*, 109(3), 520-524.
Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K. & Dutta, J., 2009, Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications, *Food chemistry*, 114(4), 1173-1182.
Fisher, K. & Phillips, C. A., 2006, The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of Campylobacter jejuni, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in *vitro* and in food systems, *Journal of Applied Microbiology*, 101(6), 1232-1240.
Garcı́a, M. A., Pinotti, A., Martino, M. N. & Zaritzky, N. E., 2004, Characterization of composite hydrocolloid films, *Carbohydrate Polymers*, 56(3), 339-345.
Ghalem, B. R. & Mohamed, B., 2009, Essential oil from gum of *Pistacia atlantica* Desf.: Screening of antimicrobial activity, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(1), 13-15.
Hatamnia, A. A., Abbaspour, N. & Darvishzadeh, R., 2014, Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica subsp. kurdica*) fruits, *Food chemistry*, 145, 306-311.
Hosseini, F., Adlgostar, A. & Sharifnia, F., 2013, Antibacterial activity of Pistacia atlantica extracts on *Streptococcus mutans* biofilm, *Int. Res. J. Biol. Sci*, 2(2), 1-7.
Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M. & Farahmandghavi, F., 2015, Bio-based composite edible films containing Origanumvulgare L. essential oil, *Industrial Crops and Products*, 67, 403-413.
Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. & Koocheki, A., 2014, Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties, *Food Hydrocolloids*, 36, 9-19.
Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. & Hosseini, S. M. H., 2010, Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water, *Food Chemistry*, 122(1), 161-166.
Peng, Y. & Li, Y., 2014, Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films, *Food Hydrocolloids*, 36, 287-293.
Salmieri, S. & Lacroix, M., 2006, Physicochemical properties of alginate/polycaprolactone-based films containing essential oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 10205-10214.
Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A. & González-Martínez, C., 2010, Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on Penicillium italicum, *Carbohydrate polymers*, 82(2), 277-283.
Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A. & Cháfer, M., 2009, Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil, *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2102-2109.
Shen, Z. & Kamdem, D. P., 2015, Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils, *International journal of biological macromolecules*, 74, 289-296.
Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S. M. & Khaksar, R., 2013, Characterization of antioxidant-antimicrobial κ-Carrageenan films containing satureja hortensis essential oil, *International journal of biological macromolecules*, 52, 116-124.
Tharanathan, R. N., 2003, Biodegradable films and composite coatings: past, present and future, *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 71-78.
Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M. & Hashemi, M., 2014, The improvement of characteristics of biodegradable films made from kefiran–whey protein by nanoparticle incorporation, *Carbohydrate polymers*, 109, 118-125.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 584-593

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 593-584

Characterization of physical and antimicrobial properties of chitosan edible films containing *Pistacia atlantica* gum essence

V. Alizadeh[1], H. Barzegar[2*], B. Nasehi[3], V. Samavati[2]

Received: 2015.10.13
Accepted: 2016.02.15

Introduction: The environmental effect of synthetic plastic wastes is of increasing global concern. There is an urgent need to develop and apply renewable biopolymer materials. Development of edible and biodegradable films can help solving the waste disposal problem by partially replacing synthetic plastics (Martins *et al*., 2012). Chitosan; a linear polysaccharide composed of (1, 4)-linked 2-amino-deoxy-b-d-glucan, is a deacetylated (to varying degrees) product of chitin, which is the second most abundant polymer found in nature after cellulose. It has been proved to be biodegradable, biofunctional, biocompatible, nontoxic and have strong antifungal and antimicrobial properties (Aider, 2010). Thus, this work was undertaken to investigate the physical, optical, barrier, mechanical, microstructural, and antimicrobial properties of chitosan films incorporated with PEO, to examine its potential applications as a packaging material.

Materials & method: The films were prepared according to the solvent casting technique reported by (Abdollahi *et al.*, 2012) with some modifications. Tensile strenght (TS) and elongation at break (E) of the films were measured with texture analyzer according to Barzegar *et al*. (2014) method. Equilibrated film strips (at 53% RH for 48 h) were fixed between the grips with an initial separation of 50 mm and the cross-head speed was set at 50 mm/min. TS was calculated by dividing the maximum force by the initial area of the film and E% was calculated through dividing the extension at the moment of specimen rupture by the initial gauge length and multiplying by 100. The WVP of the films was determined at according to the Shojaee-Aliabadi et al. (2013). The test cups containing anhydrous calcium chloride (0% RH) were sealed by the test films, then were placed inside a desiccator containing sodium-chloride-saturated solution (75% RH). Weight gain of the cups along time were recorded periodically and plotted as a function of time. Antimicrobial properties of the films were assessed using the disc-diffusion method according to Dashipour *et al*. (2015). Four gram-positive or gram-negative bacteria, including *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* and *S. typhimurium* were used for testing.

Results and discussions: The influence of PEO incorporation on thickness, TS, EAB, WVP and water solubility of films can be seen in Table 1. The incorporation of PEO into the film-forming dispersion led to an increase in the thickness of the films, which varied between 0.131 mm and 0.185 mm. It could be due to the entrapment of PEO micro droplets by the polymer matrix (Dashipour *et al.* 2015). By increasing PEO concentration from 0.5 to 2 % in the film solutions, WS decreased markedly from 22.46 to 16.15 ($P < 0.05$). This behavior can be explained by the cross-linking effects of PEO components to esters and/or amide groups. Cross-linking in the chitosan film leads to a polymer with lower water solubility, which is useful when product integrity and water resistance are intended (Hosseini *et al*., 2009).

Table 1. Physical and mechanical properties of chitosan films.

PEO (% v/v)	Thickness (mm)	Solubility in water (%)	WVP ($g\ s^{-1}\ m^{-1}\ Pa^{-1} \times 10^{-10}$)	TS (MPa)	EAB (%)
0.0	0.131 ± 0.01^{d}	22.46 ± 0.73^{a}	1.04 ± 0.05^{c}	21.22 ± 1.97^{a}	49.05 ± 1.63^{c}
0.5	0.153 ± 0.01^{c}	21.19 ± 1.22^{a}	1.12 ± 0.06^{c}	20.09 ± 1.40^{a}	50.36 ± 2.98^{c}
1	0.167 ± 0.01^{b}	18.47 ± 0.53^{b}	1.35 ± 0.09^{b}	17.04 ± 1.26^{b}	55.25 ± 2.95^{b}
2	0.185 ± 0.01^{a}	16.15 ± 0.54^{c}	1.73 ± 0.09^{a}	13.23 ± 1.35^{c}	59.37 ± 2.49^{a}

The incorporation of PEO into chitosan-based films leads to an increase in WVP values from 1.04 to 1.73 $g\ s^{-1}\ m^{-1}\ Pa^{-1} \times 10^{-10}$. A similar trend has been found by Bonilla *et al.*, (2011) in chitosan-based films incorporated

1, 2 and 3. MSc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.
(Corresponding author email address: barzegarha@yahoo.com)

with thyme essential oil. The structural discontinuities induced in the polymer network by the addition of PEO could be the reason for the lowest resistance to breakage of the emulsified films. These discontinuities greatly reduced the film cohesion and mechanical resistance (Bonilla *et al.*, 2012). Conversely, the EAB value of the films increased significantly ($P < 0.05$) from 49.05% to 59.37%, because the essential oil acted as a plasticizer even at small concentrations and enhanced the flexibility of the polymer chains.

The effects of PEO on the antimicrobial properties of the chitosan films are shown in Table 2. The films containing 1% PEO showed a certain inhibitory effect against *B. cereus* and *S. aureus* but no inhibition against *S. typhimurium* and *E. coli*. As the concentration of PEO increased, the zone of inhibition also increased significantly ($P < 0.05$). The films containing 2% PEO were effective against all studied bacteria and a greater inhibitory power was observed on *S. aureus* with the zone area of 49.67 mm^2. The inhibitory effect of PEO is due to the two monoterpene hydrocarbons, α-pinene, and β-pinene (Barrero *et al.*, 2005).

Table2. Antimicrobial activity of chitosan films.

PEO (% v/v)	**Inhibition zone (mm^2)**			
	S. aureus	***B. cereus***	***E. coli***	***S. typhimurium***
0.0	0.00^c	0.00^c	0.00^b	0.00^b
0.5	0.00^c	0.00^c	0.00^b	0.00^b
1	22.58 ± 1.76^b	15.63 ± 0.63^b	0.00^b	0.00^b
2	49.67 ± 3.02^a	41.96 ± 1.40^a	21.12 ± 1.87^a	12.49 ± 1.57^a

Conclusion: The results obtained in this study showed that the chitosan films incorporated with PEO has a good potential to being empolyed as an active film to preserve food products. Addition of PEO decreased water solubility and tensile strength, while increased the thickness, WVP and percent elongation of the films. Overall, this study demonstrates that PEO-containing films present a good potential for their application in the food industry.

Keywords: Chitosan, *Pistacia atlantica* gum essential oil, Antimicrobial activity.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 594-610

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 610-594

بهینه سازی شرایط استخراج پکتین به کمک امواج اولتراسونیک از تفاله شاه توت (*Morus nigra L.*)

وحید مسیبی[1]- زهرا امام جمعه[2*]

تاریخ دریافت: 1394/07/17
تاریخ پذیرش: 1394/11/24

چکیده

در این پژوهش تکنیک استخراج به‌کمک امواج اولتراسوند (UAE) به‌منظور جداسازی پکتین از تفاله شاه‌توت به‌کار گرفته شد و از روش سطح پاسخ به‌منظور بهینه‌سازی شرایط استخراج استفاده شد. آزمایش‌ها در قالب طرح مرکب مرکزی با 3 متغیر مستقل هر یک در 3 سطح شامل نقاط فاکتوریل، محوری و مرکزی پایه‌ریزی شدند. متغیرهای مستقل فرآیند شامل زمان استخراج (60-20 دقیقه)، شدت صوت (100٪-40) و نسبت حلال به نمونه (1:30-1:15 میلی‌لیتر بر گرم) بودند که تاثیر آنها بر روی راندمان استخراج، درجه استری شدن و محتوای گالاکتورونیک اسید پکتین مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس نتایج بدست آمده، راندمان پکتین به‌صورت خطی تحت تاثیر شرایط استخراج قرار گرفت و با افزایش هر سه پارامتر مورد بررسی به‌صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد (P<0/0001). شرایط بهینه استخراج که با روش بهینه‌سازی عددی تعیین شد عبارت بودند از: مدت زمان 51/04 دقیقه، شدت اولتراسوند 100 درصد و نسبت حلال به نمونه 1:30 گرم بر میلی‌لیتر. تحت شرایط بهینه مقادیر راندمان، درجه استری شدن و محتوای گالاکتورونیک اسید پکتین به ترتیب 7/39٪، 56/11% و 25/46% پیش‌بینی شد که با آزمایشات تاییدی انجام شده اختلاف معنی‌داری بین مقادیر بدست آمده و مقادیر پیش‌بینی شده توسط مدل مشاهده نشد. پکتین تفاله شاه‌توت در آزمایش رئولوژیک رفتار ویسکوالاستیک و رقیق‌شوندگی با برش از خود نشان داد و همچنین وزن مولکولی متوسط آن که براساس ویسکوزیته ذاتی تعیین شد، 50/03 kDa بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: تفاله شاه‌توت، پکتین، راندمان، محتوای گالاکتورونیک اسید، بهینه‌سازی

مقدمه

پکتین هتروپلی‌ساکاریدی است که در دیواره سلولی نخستین گیاهان و در بخش لاملای میانی یافت می‌شود و نقش مهمی را به‌عنوان ماده سیمانی ایفا می‌کند. پکتین عمدتا از واحدهای دی گالاکتورونیک اسید تشکیل شده است که با پیوندهای گلیکوزیدی α-1→4 به‌هم متصل شده و تشکیل یک زنجیره خطی می‌دهند، که به این زنجیره خطی زنجیره‌های جانبی قندهای خنثی دیگری مانند ال-رامنوز، ال-آرابینوز و دی-گالاکتوز متصل شده است (Liu *et al.*, 2010). برخی از گروه‌های کربوکسیلی واحدهای گالاکتورونیک اسید ممکن است با متانول استری شده باشند. نسبت گروه‌های کربوکسیلی استری شده به کل گروه‌های کربوکسیلی را درجه استری شدن (DE) می‌نامند که نقش مهمی در خواص ژل‌کنندگی پکتین دارد. بسته به درجه استری شدن پکتین تجاری به دو گروه اصلی متوکسیل بالا (DE > 50٪) و متوکسیل پایین (DE < 50٪) طبقه‌بندی می‌شود (Thakur *et al.*, 1997). در صنایع غذایی پکتین اصولا به‌عنوان یک عامل ژله‌ای‌کننده شناخته شده است و کاربرد وسیعی در تولید مرباها و ژله‌ها، عصاره میوه‌ها، شیرینی‌ها و پرکننده‌های نانوایی دارد. کاربرد عمده دیگر پکتین، برای پایدارسازی محصولات شیری اسیدی شده و دوغ است (Willats *et al.*, 2006). امروزه در مقیاس صنعتی عمدتا از پوست مرکبات یا گوشت سیب برای تولید پکتین استفاده می‌شود که هر دو فرآورده‌های جانبی تولید عصاره از این میوه‌ها هستند (Kumar Shaha *et al.*, 2013). تقاضای فزآینده صنعت به پکتین‌هایی با قابلیتهای مختلف در ژله‌ای کردن یا پایدارسازی محصولات، نیاز به پکتین‌های متفاوت یا مشتقات متناسب آن را افزایش داده است (Rosenbohm *et al.*, 2003).

در فرآیند تولید عصاره از میوه‌های خانواده توت، مقادیر زیادی باقیمانده پرس (تفاله) به‌عنوان محصول جانبی تولید می شود که

1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
2-استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
(* - نویسنده مسئول Email: emamj@ut.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.50466

حاوی چندین ماده مغذی، اجزاء سازنده و ترکیبات با ارزش است (Landbo & Meyer. 2001, Hilz *et al*., 2005). اگرچه میزان پکتین این تفاله‌ها در مقایسه با دیگر میوه‌های غنی از پکتین تا حدودی کمتر است ولی با این وجود برای استخراج پکتین مناسب هستند (Belafi-Bako *et al*., 2012). شاه‌توت (*Morus nigra*. L) میوه‌ای است که به‌صورت عمده برای تولید مارمالاد، آب و نوشیدنی الکلی شاه‌توت، رنگ‌های طبیعی و نیز به‌صورت میوه منجمد در بستنی‌سازی استفاده می‌شود (حجت پناه و همکاران، 2011). میوه تازه شاه‌توت به‌خاطر ساختار ظریف، حساسیت نسبت به فساد و پایداری کم آن در شرایط انبارمانی (2 ماه در شرایط محیطی و پس از آن حداکثر تا 6 هفته در یخچال، حجت پناه و همکاران، 2011)، به ندرت تجاری‌سازی شده و به همین دلیل معمولا به ژله یا آب شاه‌توت فرآوری می‌شود (Perez-Gregorio *et al*., 2011).

در فرآیند مرسوم استخراج در مقیاس صنعتی، پکتین با آب داغ (60-100 °C) اسیدی شده با یک اسید معدنی (مانند سولفوریک، فسفریک، نیتریک، هیدروکلریک، و یا سیتریک اسید) که pH آن به 1/3-3 رسانده شده است در مدت 0/5 تا 6 ساعت استخراج می‌شود. به دلیل زمان نسبتا طولانی حرارت‌دهی در این روش، پکتین استخراج شده دستخوش تخریب حرارتی می‌شود که این خود می‌تواند منجر به تغییرات نامطلوب در خواص فیزیکوشیمیایی و عملکردی آن شود (Koubala *et al*., 2008)، لذا روش مرسوم استخراج چه از لحاظ کمیت و چه کیفیت پکتین حاصل مطلوب نیست (Liu *et al*., 2006). اخیرا تعدادی از روش‌های جدید استخراج از جمله استخراج به‌کمک اولتراسوند (UAE)، استخراج با سیال فوق بحرانی (SFE)، استخراج به کمک مایکروویو (MAE) و استخراج تسریع شده با حلال (ASE) به‌عنوان تکنیک‌های سازگارتر با محیط زیست و کارآمدتر برای افزایش بازیافت ترکیبات با ارزش از بافت‌های گیاهی، توسعه داده شده‌اند (Prakash Maran & Prya, 2015). استخراج به‌کمک اولتراسوند فرآیندی است که در آن از امواج صوتی با فرکانس بالاتر از 20 کیلوهرتز و حلال‌ها برای استخراج ترکیبات هدف از بافت‌های گیاهی مختلف استفاده می‌شود. اثرات مفید استخراج با این روش به کاویتاسیون صوتی نسبت داده شده است که با شکستن دیواره‌های سلولی باعث نفوذ بیشتر حلال به درون بافت گیاهی و متعاقبا آزادسازی محتویات درون سلول به بیرون (حلال استخراج‌کننده) می‌شود (Toma *et al*., 2001). از آنجاییکه استخراج به‌کمک اولتراسوند مصرف انرژی و حلال کمتری دارد و راندمان استخراج بیشتر و سطح خودکارسازی بالاتری را ایجاد می‌کند، لذا نسبت به روش مرسوم استخراج با حلال قابل ترجیح است (Ying *et al*., 2011). علاوه بر این به دلیل آنکه استخراج با این روش در درجه حرارت پایین‌تری انجام می‌شود لذا برای ترکیبات ناپایدار در مقابل دما مناسب‌تر است (Wu *et al*., 2001). علارغم آنکه روش استخراج به‌کمک اولتراسوند به‌طور گسترده‌ای برای استخراج ترکیبات مختلف از بافت‌های گیاهی مورد مطالعه قرار گرفته و به‌کار برده شده است، با این حال تمرکز تعداد کمی از این مطالعات منتشر شده بر استخراج پکتین بوده است (Panchev *et al*., 1988; Bagherian *et al*., 2011; Minjares-Fuentes *et al*., 2014; Xu *et al*., 2014; Wang *et al*., 2015; Chen *et al*., 2015). این محققان افزایش راندمان پکتین و نیز کاهش زمان استخراج را به‌عنوان مزیت اصلی این روش در مقایسه با روش مرسوم استخراج ذکر کرده‌اند. برای نمونه (Wang *et al*., 2015) گزارش کردند که استخراج به‌کمک اولتراسوند در مقایسه با روش مرسوم، راندمان پکتین استحصال شده از پوست گریپ‌فروت را به میزان 16/34% افزایش و درجه حرارت و زمان استخراج را به ترتیب 13/3 °C و 37/78% کاهش داد. با این وجود، پکتین استخراج شده با این روش ویسکوزیته، وزن مولکولی و درجه استری شدن کمتر اما خلوص و درجه انشعاب بیشتری را در مقایسه با روش مرسوم نشان داد.

اخیرا Chen و همکاران (2015) نیز از روش سطح پاسخ (RSM) برای بهینه‌سازی استخراج پلی‌ساکاریدهای خام (کل پلی‌ساکاریدهای استخراج شده و رسوب داده شده با الکل) به‌کمک اولتراسوند از پودر میوه شاه‌توت استفاده کرده‌اند. لیکن این محققان تاثیر شرایط استخراج را بر روی درجه استری شدن و محتوای گالاکتورونیک اسید بررسی نکردند و بهینه‌سازی را تنها براساس یک متغیر وابسته (راندمان) انجام دادند. لذا در این پژوهش برآن شدیم تا تاثیر شرایط استخراج به‌کمک امواج اولتراسوند (یعنی زمان استخراج، شدت صوت، و نسبت حلال به نمونه) را بر روی راندمان، درجه استری شدن و محتوای گالاکتورونیک اسید پکتین استحصال شده از تفاله شاه‌توت ارزیابی و بهینه‌سازی کنیم. برای این منظور از روش سطح پاسخ با طرح مرکب مرکزی (CCD) برای برازش دادن و بهره‌برداری از یک مدل ریاضیاتی که بتواند رابطه بین متغیرها و هر پاسخ را به‌خوبی نمایش دهد، استفاده شد. در کنار این، وزن مولکولی متوسط و خواص رئولوژیک نمونه‌ای از پکتین‌های استخراج شده نیز اندازه‌گیری و مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پودر تفاله شاه‌توت

20 کیلوگرم میوه تازه شاه‌توت در فصل تابستان از یک بازار محلی میوه در کرج خریداری شد. میوه‌ها بلافاصله با استفاده از یک آبمیوه‌گیر پرسی دستی عصاره‌گیری شدند. تفاله (باقیمانده پرس) که گوشت و دانه میوه را شامل می‌شد مجددا از یک صافی پارچه‌ای دولایه عبور داده شد تا حد امکان آب شاه‌توت بیشتری از آن جدا شود. تفاله تری که به این طریق بدست آمد در ظروف پلاستیکی

پلی‌اتیلنی پر و تا زمان خشک کردن در فریزر در دمای -18°C نگهداری شد. در مرحله بعد تفاله از حالت انجماد خارج شده و در یک آون تحت خلاء (Townson & Mercer Croydon, England) در درجه حرارت 50°C و مدت 6-4 ساعت به‌صورت لایه‌های نازک خشک شد. تفاله خشک شده با استفاده از یک خردکن آزمایشگاهی خرد شد تا به‌صورت پودر درآید و عملیات استخراج بر روی آن در مرحله بعد به‌صورت موثرتری انجام شود. ذرات پودر شده تفاله در ظروف پلی‌اتیلنی پر و تا زمان استخراج پکتین در یخچال (4°C) نگهداری شد. محتوای رطوبت پودر تفاله براساس روش Imran و همکاران (2010) اندازه‌گیری شد که مقدار آن به‌طور متوسط 7/8 درصد بدست آمد.

استخراج و جداسازی پکتین

استخراج و جداسازی پکتین بر طبق روش باقریان و همکاران (2011) با یکسری تغییرات انجام شد که مراحل آن به‌صورت شماتیک در شکل شماره 1 نشان داده شده است. 40 گرم پودر تفاله شاه‌توت در یک ارلن با نسبت‌های 15:1، 20:1 و 30:1 (گرم بر میلی‌لیتر) با آب مقطر دیونیزه مخلوط شد. pH مخلوط با محلول 1 نرمال هیدروکلریک اسید بر روی عدد ثابت 2 تنظیم شد. فرآیند استخراج در یک حمام اولتراسونیک هیتردار (Elma TI-H-10) محتوی آب مقطر و در ترکیب‌های مختلف زمان (20، 40، و 60 دقیقه)، و شدت صوت (40، 70، و 80 %) مطابق با جدول شماره 2 انجام گرفت. فرکانس، توان اسمی و درجه حرارت آب حمام اولتراسونیک در تمام تیمارهای استخراجی یکسان و به‌ترتیب 35 کیلو هرتز، 800 W و 68-65°C بود. عصاره استخراج شده سرد شد تا به دمای محیط برسد و در مرحله بعد ابتدا توسط سانتریفوژ (Universal 320 ،Hettich ، Germany) (4000rpm، 10 دقیقه) و سپس با کمک قیف بوخنر (کاغذ صافی واتمن شماره 1) صاف شد. عصاره صاف شده در یک تبخیر کننده چرخشی (RV-10, IKA, Germany) و تحت شرایط خلاء (50°C) تا یک پنجم حجم اولیه غلیظ شد. سپس pH عصاره غلیظ شده با محلول سود 2 نرمال به 3/5 (pH حداکثر رسوب پکتین) رسانده شد و به نسبت حجمی 1 به 1/5 (1 قسمت عصاره و 1/5 قسمت اتانول 96%) با اتانول 96% مخلوط شد و به مدت 8 ساعت در درجه حرارت محیط باقی ماند تا پکتین رسوب کند. پکتین رسوب کرده 2 بار با اتانول 96% تازه شستشو داده شد تا مونوساکاریدها و دی ساکاریدها از آن جدا شود (Maran *et al*., 2013)، سپس با کمک قیف بوخنر (کاغذ صافی واتمن شماره 1) از ناخالصی‌ها جداسازی شد. پکتین تر بدست آمده تحت شرایط خلاء (45°C) تا رسیدن به وزن ثابت خشک و سپس با یک آسیاب آزمایشگاهی آسیاب شد تا به‌صورت پودر درآید. پودر پکتین از یک الک آزمایشگاهی با مش 80 عبور داده شد و برای انجام آزمایشات بعدی در یخچال (4 °C) نگهداری شد. راندمان پکتین (PY) از فرمول شماره 1 محاسبه شد (Maran *et al*., 2014b):

$$PY\ (\%) = \left(\frac{m_O}{m}\right) \times 100 \qquad (1)$$

که در آن m_0 وزن پکتین خشک نهایی (گرم) و m وزن پودر تفاله شاه‌توت خشک شده (گرم) پس از کسر رطوبت می‌باشد.

کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش گرید آزمایشگاهی بودند که از شرکت مرک (Merck Chemicals, Darmstadt, Germany) خریداری شدند. دو معرف متاهیدروکسی دی فنیل (3-فنیل فنول) و دی گالاکتورونیک اسید تک آبه (≥97٪ خلوص) نیز از شرکت سیگما آلدریچ (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) خریداری شدند. همچنین اتانول 96% از شرکت جهان شیمی (تهران) خریداری شد.

آنالیز شیمیایی پکتین

درجه استری شدن (DE)

اندازه‌گیری درجه استری شدن پکتین بر اساس روش پتانسیومتری Bochek و همکاران (2001) انجام شد. 0/2گرم از نمونه پودر پکتین در داخل یک ارلن با 2/5 میلی‌لیتر اتانول 96% خیسانده شد. 20 میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه 40°C به آن اضافه و به مدت 2 ساعت بر روی همزن مغناطیسی هم‌زده شد تا پکتین کاملا حل شود و کلوخه‌ای از آن باقی نماند. سپس با سود 0/1 نرمال در حضور معرف فنل فتالئین تا ظهور رنگ صورتی کمرنگ تیتر شد و حجم سود مصرف شده به‌عنوان تیتر خنثی شدن (V_1) یادداشت شد. به محلول پلی‌گالاکتورونیک اسید خنثی شده در مرحله اول تیتراسیون، 10 میلی‌لیتر سود 0/1 نرمال اضافه و ارلن درپوش گذاری شد و محتویات آن به مدت 2 ساعت دیگر به آرامی هم‌زده شد تا گروه‌های استری شده پکتین صابونی شود. 10 میلی‌لیتر اسید کلریدریک اضافه شد و اسید اضافی مجددا با سود 0/1 نرمال تا ظهور رنگ صورتی کمرنگ تیتر شد و حجم مصرفی تحت عنوان تیتر صابونی شدن (V_2) یادداشت شد. درجه استری شدن پکتین از رابطه زیر محاسبه شد (معادله 2):

$$DE\ (\%) = [V_2/(V_1 + V_2)] \times 100 \qquad (2)$$

محتوای گالاکتورونیک اسید

محتوای گالاکتورونیک اسید پکتین با روش رنگ‌سنجی با معرف متاهیدروکسی دی فنیل اقتباس شده از روش Ibarz و همکاران

(2006) اندازه گیری شد. 1 میلی‌لیتر از محلول آبی 0/02% وزنی/ حجمی پکتین با 6 میلی‌لیتر از محلول 12/5 میلی‌مولار تترابورات سدیم در اسید سولفوریک غلیظ (98-95%) در یک لوله آزمایش شیشه‌ای مخلوط شد. مخلوط در حمام آب جوش 100 °C دقیقا به مدت 6 دقیقه حرارت‌دهی شد و سپس در حمام آب یخ سریعا خنک شد. 0/1 میلی‌لیتر (100 میکرولیتر) از معرف متاهیدروکسی دی فنیل 0/15% وزنی/ حجمی در 0/125 مولار سدیم هیدروکسید به محتویات لوله آزمایش اضافه شد و جذب آن پس از گذشت 15 دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر ماوراء بنفش- مرئی (Cecil CE2502) در 520 نانومتر اندازه‌گیری شد. یک منحنی استاندارد جذب/ غلظت با اندازه‌گیری جذب محلول‌های گالاکتورونیک اسید در محدوده غلظت 100-20 میکروگرم بر میلی‌لیتر در 520 نانومتر تهیه شد. برای هر نمونه پکتین یک نمونه شاهد نیز که بدون گالاکتورونیک اسید بود آماده‌سازی و جذب آن از جذب نمونه اصلی کسر شد. غلظت گالاکتورونیک اسید نمونه‌های پکتین با استفاده از معادله رگرسیون خطی منحنی کالیبراسیون و بر پایه وزن خشک پکتین محاسبه شد (معادله 3).

$$Y = 0.012x - 0.109 \qquad R^2 = 0.999 \qquad (3)$$

در این معادله Y مقدار جذب و x غلظت گالاکتورونیک اسید بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر است.

شکل 1- مراحل استخراج و جداسازی پکتین

ویسکوزیته ذاتی ([η]) و وزن مولکولی متوسط (M_v)

ویسکوزیته ذاتی نمونه‌ای از پکتین استخراج شده از تفاله شاه‌توت (تیمار نقطه مرکزی) بر اساس روش Pagan و همکاران (2010) تعیین شد. غلظت‌های 0/1، 0/2، 0/3 و 0/4 از پکتین در محلول آبی حاوی 5 میلی‌مولار ادتات سدیم، 0/155 مولار سدیم کلرید و 0/04 درصد سدیم آزید (به‌عنوان نگهدارنده) آماده‌سازی شد. محلول‌های

پکتین با صافی غشایی 0/45 میکرون صاف شد و زمان جریان آنها با استفاده از ویسکومتر لوله مویین Cannon-Fenske شماره 518/10 (Schott-Geräte, Hofheim, Germany) اندازه‌گیری شد. درجه حرارت محلول با غوطه‌ور کردن ویسکومتر در یک حمام آب با دمای کنترل شده در 25 °C ثابت نگه داشته شد. ویسکوزیته ذاتی ([η]) پکتین از طریق ترسیم نمودار غلظت پکتین (بر حسب g/100 mL) در محور افقی در برابر لگاریتم طبیعی ویسکوزیته نسبی تقسیم بر غلظت (معادله Kraemer) و ویسکوزیته ویژه تقسیم بر غلظت (معادله Huggins) در محور عمودی برآورد شد.

$$(\ln\eta_{rel})/C=[\eta]+K''[\eta]^2 \quad \text{(Kraemer)} \qquad (4)$$

$$(\eta_{sp}/C=[\eta]+K'[\eta]^2C \quad \text{(Huggins)} \qquad (5)$$

میانگین نقطه تلاقی این دو نمودار با محور عمودی به‌عنوان ویسکوزیته ذاتی پکتین برحسب واحد دسی‌لیتر بر گرم قلمداد شد (Iglesias & Lozano, 2004). در نهایت وزن مولکولی متوسط (M_v) پکتین از معادله Mark-Houwink-Sakurada ($[\eta]=KM_v^a$) که در آن K و a اعداد ثابتی هستند که هر دو به دما و مشخصات حل‌شونده و حلال وابسته هستند (Migliori *et al.*, 2010). در این پژوهش مقادیر K و a به ترتیب برابر با 0/09550 و 0/73 در نظر گرفته شد (Anger & Berth, 1986).

خواص رئولوژیک

خصوصیات رئولوژیک پکتین بوسیله دستگاه رئومتر تنش کنترل شده (Anton Paar, Physica MCR 300) و پروب با هندسه استوانه متحدالمرکز (شعاع خارجی 14/46 mm، شکاف: 1/13 mm) ارزیابی شد. محلول پکتین با حل کردن آن در آب مقطر تهیه شد (0/5% و 1/5٪ وزنی/ حجمی). آزمون نوسانی دینامیک برای اندازه‌گیری مدول‌های الاستیک ('G) و ویسکوز ("G) محلول‌های پکتین به‌کار رفت. ابتدا آزمون روبش کرنش (100-0/01% در 1 هرتز) بر روی نمونه انجام شد تا محدوده ویسکوالاستیک خطی[1] مشخص شود. سپس وابستگی مدول‌های 'G و "G به فرکانس با آزمون روبش فرکانس (100-0/01 هرتز در کرنش 1٪) تعیین شد. نمودار رئولوژیکی نیز با کمک نرم‌افزار Origin نسخه 8,6,0 رسم شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طرح Box-Wilson که طرح مرکب مرکزی نیز نامیده می‌شود، یک طرح آزمایشی است که برای دستیابی به حداکثر اطلاعات درباره یک فرآیند با حداقل تعداد آزمایشات به‌کار می‌رود (Yang *et al.*, 2009). در این پژوهش طرح مرکب مرکزی وجوه پر[2] با سه متغیر مستقل هر یک در 3 سطح و 6 تکرار در نقطه مرکزی (برای محاسبه تکرارپذیری فرآیند) به‌منظور بررسی و بهینه‌سازی اثرات متغیرهای مستقل زمان استخراج، شدت صوت و نسبت حلال به نمونه بر روی راندمان، درجه استری شدن و محتوای گالاکتورونیک اسید پکتین به‌کار گرفته شد. سطوح متغیرهای مستقل فرآیند در جدول شماره 1 نشان داده شده است. کفایت مدل‌های برازش شده برای هر پاسخ با استفاده از: آزمایش فیشر (F-test)، ضریب تغییرات (CV)، نمودار مقادیر مشاهده شده در مقابل مقادیر پیش‌بینی شده، آزمایش عدم برازش[3]، و ضریب تغییرات در سطح 5% معناداری ارزیابی شد. به‌منظور طراحی آزمایشات، تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارهای مربوط به روش سطح پاسخ از نرم‌افزار Design expert (نسخه 8.0.7.1 trial) استفاده گردید.

نتایج و بحث

20 تیمار استخراجی مطابق شرایط تعیین شده در طرح RSM انجام گرفت. جدول 2 شرایط هر تیمار استخراجی و نیز مقادیر بدست آمده برای راندمان، درجه استری شدن و محتوای گالاکتورونیک اسید را در استخراج پکتین به کمک امواج اولتراسوند از تفاله شاه‌توت نشان می دهد.

گزینش مدل مناسب

داده‌های آزمایشی بدست آمده برای راندمان، DE و GalA پکتین به مدل‌های مختلفی (خطی، متقابل (2FI)، درجه دوم و درجه سوم) برازش شدند، سپس این مدلها با کمک تجزیه و تحلیل رگرسیون و تجزیه واریانس (ANOVA) ارزیابی شدند تا مدل تجربی مناسب انتخاب شود. بر این اساس نرم‌افزار Design Expert مدل خطی را مدل مناسب برای راندمان و مدل چند جمله‌ای درجه دوم را به‌عنوان مدل مناسب برای DE و GalA پکتین انتخاب کرد. معنی‌داری آماری مدل‌های انتخاب شده و نیز هر کدام از ضرایب رگرسیونی مدل‌ها با آنالیز واریانس بررسی شد (جداول 3 و 4). هرچه مقدار F بزرگتر و مقدار p مربوطه کوچکتر شود مدل معنی‌دارتر خواهد بود (Atkinson & Doney, 1992). بر این اساس مقدار بالای F (156/73) و مقدار پایین‌تر p مربوطه ($p<0/0001$) نشان می‌دهد که مدل خطی به‌خوبی به داده‌های آزمایشی مربوط به راندمان پکتین برازش شده است. همچنین مدل‌های درجه دوم برازش شده برای

1 Linear viscoelastic region (LVR)

2 Face Centered Central Composite Design

3 Lack of fit

DE و GalA پکتین نیز معنی‌دار شدند ($p<0/05$). کفایت مدل‌های گزینش شده علاوه بر این با استفاده از ضریب تبیین (R^2)، ضریب تبیین اصلاح شده ($Adj\text{-}R^2$) و نیز آزمون عدم برازش و ضریب تغییرات نیز بررسی شد. مطابق نتایج ANOVA آزمون عدم برازش برای هر سه پاسخ، معنی‌دار نبود که نشان می‌دهد این مدلها برای پیش‌گویی پاسخ‌های مربوطه به اندازه کافی دقیق هستند.

جدول 1- متغیرهای مستقل فرآیند و سطوح آن‌ها

متغیرهای مستقل	سطوح هر متغیر		
	1- (پایین)	0 (مرکزی)	1+ (بالا)
X_1: زمان استخراج (دقیقه)	20	40	60
X_2: شدت صوت (٪)	40	70	100
X_3: نسبت حلال به نمونه (میلی‌لیتر بر گرم)	15	22/5	30

جدول 2- طرح مکعب مرکزی وجوه پر (FCCCD) و مقادیر پاسخ‌های بدست آمده در استخراج پکتین به‌کمک امواج اولتراسونیک

تیمار	زمان استخراج (دقیقه)	شدت صوت (%)	نسبت حلال به نمونه (میلی‌لیتر بر گرم)	راندمان پکتین (%)	درجه استری شدن (%)	محتوای گالاکتورونیک اسید (%)
1	20	40	30	5/55	45/82	18/70
2	60	40	30	5/93	58/33	24/08
3	20	100	30	6/71	53/57	21/17
4	60	100	30	7/68	51/51	26/42
5	20	40	15	4/73	42/42	31/45
6	60	40	15	5/53	51/29	25/63
7	20	100	15	6/10	52/54	21/71
8	60	100	15	7/01	42/85	22/42
9	20	70	22/5	5/77	44/82	25/46
10	60	70	22/5	6/61	45/16	27/17
11	40	40	22/5	5/42	51/39	29/25
12	40	100	22/5	6/83	53/57	24/87
13	40	70	30	6/51	56/52	21/87
14	40	70	15	5/88	51/85	25/25
15	40	70	22/5	5/99	56/66	25/92
16	40	70	22/5	6/35	57/14	25/74
17	40	70	22/5	6/02	55/55	26/52
18	40	70	22/5	6/17	50/00	25/45
19	40	70	22/5	6/23	51/85	23/62
20	40	70	22/5	5/92	55/32	25/21

مقادیر شاخص‌های آماری مربوط به مدل برازش شده به هر یک از پاسخ‌ها در جدول 5 نشان داده شده است. مقادیر بالای ضریب تبیین (0/9671)، ضریب تبیین اصلاح شده (0/9609) و ضریب تبیین پیش‌بینی شده (0/9460) برای راندمان پکتین به وضوح بیانگر این است که مدل رگرسیونی خطی انتخاب شده برای نشان دادن رابطه واقعی بین پاسخ (راندمان) و متغیرهای مستقل از همبستگی بالایی برخوردار است (Prakash Maran *et al.*, 2013). مقدار ضریب تبیین منفی (0/0517-) برای GalA نشان می‌دهد که میانگین کلی نسبت به مدل چند جمله‌ای درجه دوم پیشنهاد شده پیشگوی بهتری برای پاسخ (GalA) است. با توجه به جدول 5، مقدار کم ضریب تغییرات (کمتر از 10%) برای هر سه پاسخ نشان می‌دهد که داده‌های آزمایشی بدست آمده از تکرارپذیری و قابلیت اطمینان بالایی برخوردار است. در این پژوهش مقدار دقت مناسب برای هر سه مدل برازش شده بیشتر از 4 بدست آمد که نشان می‌دهد می‌توان از مدل‌های

برازش شده در محدوده آزمایشی استفاده کرد (Minjares-Fuentes *et al.*, 2014). نتایج ANOVA (جدول 3) نشان داد که اثر هر سه پارامتر مورد بررسی بر روی راندمان پکتین معنی‌دار است ($p<0/0001$) و شدت صوت (X_2) بیشترین تاثیر معنی‌دار را بر روی راندمان پکتین نشان داد. در ارتباط با DE (جدول 4)، در بین اثرات خطی، فقط اثر خطی نسبت حلال به نمونه (X_3) بر روی DE پکتین معنی‌دار شد ($p<0/0001$). (X_1X_2) نیز عبارت‌های معنی‌دار مدل بودند که بر روی DE تاثیر گذاشتند ($p<0/05$). اثر خطی شدت صوت (X_2)، اثرات خطی و درجه دوم نسبت حلال به نمونه (X_3 و X_3^2) و اثرات متقابل بین زمان استخراج و نسبت حلال به نمونه (X_1X_3) و بین شدت صوت و نسبت حلال به نمونه (X_2X_3) نیز عبارت‌های معنی‌دار موثر بر محتوای GalA پکتین بودند($p<0/05$).

با به‌کارگیری آنالیز رگرسیونی بر روی داده‌های آزمایشگاهی، نرم‌افزار Design Expert معادله‌های رگرسیونی خطی و چند جمله‌ای درجه دوم زیر را برای توصیف رابطه بین متغیرهای مستقل فرایند و پاسخ‌ها تولید کرد:

$$PY = 6.15+ 0.39X_1+ 0.72X_2 -0.31X_3 \quad (6)$$

$$DE =+53.41+ 1.00X_1+ 0.48X_2- 2.48X_3 -4.14X_1X_2 - 1.41X_1X_3 +0.094X_2X_3-6.89X_{12}+0.60X_{22} +2.30X32 \quad (7)$$

$$GA = +25.73 + 0.72X_1 -1.25X_2 + 1.42X_3 + 0.80X_1X_2 - 1.97X_1X_3-2.224X_2X_3 +0.12X_1^2 +0.86X_2^2 -2.64X_3^2 \quad (8)$$

که در این معادلات PY، DE و GA به‌ترتیب مقادیر راندمان پکتین، درجه استری شدن و محتوای گالاکتورونیک اسید برحسب درصد می‌باشد. X_1، X_2 و X_3 نیز به ترتیب مقادیر کدگذاری شده زمان استخراج، شدت صوت و نسبت حلال به نمونه می‌باشد.

جدول 3- نتایج آنالیز واریانس مدل خطی برای راندمان پکتین

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار p
مدل	7/64	3	2/55	156/73	<0/0001
X_1- زمان استخراج	1/52	1	1/52	93/59	<0/0001
X_2- شدت صوت	5/14	1	5/14	316/31	<0/0001
X_3- نسبت حلال به نمونه	0/98	1	0/98	60/28	<0/0001
باقیمانده	0/26	16	0/021		
عدم برازش	0/13	11	0/011	0/43	0/8889
خطای خالص	0/13	5	0/027		
کل	7/90	19			

جدول 4- نتایج آنالیز واریانس و ضرایب رگرسیونی مدل چند جمله‌ای درجه دوم برای درجه استری شدن و محتوای گالاکتورونیک اسید

منبع	درجه آزادی	درجه استری شدن			محتوای گالاکتورونیک اسید		
		ضرایب رگرسیون	مجموع مربعات	عدد p	ضرایب رگرسیون	مجموع مربعات	عدد p
مدل	9	27/7170	381/10	0/0039	43/9607	140/33	0/0005
X_1	1	1/7003	9/94	0/2497	-0/3757	5/23	0/0902
X_2	1	0/2086	2/29	0/5702	-0/4511	15/68	0/0088
X_3	1	-1/8573	61/50	0/0125	0/7056	20/22	0/0042
X_1X_2	1	-0/0069	137/20	0/0011	0/0013	5/12	0/0931
X_1X_3	1	0/0094	15/88	0/1535	0/0131	30/97	0/0010
X_2X_3	1	-0/0004	0/070	0/9202	0/0099	39/43	0/0004
X_1^2	1	-0/0172	130/67	0/0013	0/0003	0/038	0/8769
X_2^2	1	0/0007	0/98	0/7093	0/0010	2/04	0/2683
X_3^2	1	0/0409	14/57	0/1698	-0/0469	19/14	0/0049
باقیمانده	10		66/57			14/86	
عدم برازش	5		25/92	0/6832		10/02	0/2223
خطای خالص	5		40/64			4/85	
کل	19		447/66			155/20	

جدول 5- شاخص‌های آماری مدل‌های برازش یافته برای هر پاسخ

پاسخ	R^2	$R^2_{adjusted}$	$R^2_{predicted}$	Adequate precision	SD	Mean	CV	PRESS
راندمان	0/9671	0/9609	0/9460	49/813	0/13	6/15	2/07	0/43
DE	0/851	0/718	0/535	8/53	2/58	51/41	5/02	208/38
GalA	0/904	0/818	-0/052	13/014	1/22	24/90	4/90	163/22

تاثیر شرایط استخراج بر روی راندمان پکتین

بهترین روش برای به تصویر کشیدن اثرات متغیرهای مستقل بر روی یک پاسخ، ترسیم نمودارهای سطح پاسخ سه‌بعدی مدل است. هدف اصلی از نمودار سطح پاسخ ردیابی هرچه موثرتر مقادیر بهینه متغیرهای مستقل آزمایشی است به‌نحوی که مقدار پاسخ مورد نظر بیشترین شود. با تجزیه و تحلیل این نمودارها می‌توان بهترین محدوده را برای پاسخ برآورد کرد (Li *et al*., 2012). در این پژوهش به‌منظور درک بهتر و مطالعه اثرات جداگانه و متقابل متغیرهای مستقل نمودارهای سطح پاسخ سه‌بعدی با ثابت نگه داشتن مقدار یک فاکتور در سطح مرکزی آن و تغییر دادن دو فاکتور دیگر در محدوده آزمایشی آنها، رسم شدند. شکل 2 نمودارهای سطح پاسخ سه بعدی مربوط به اثرات شرایط استخراج بر روی راندمان پکتین را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، هنگامی که زمان استخراج، شدت صوت و نسبت حلال به نمونه به‌ترتیب در محدوده 60-20 دقیقه، 100-40%، و 1:30-1:15 میلی‌لیتر بر گرم افزایش داده شد، راندمان پکتین استخراج شده نیز به‌صورت خطی افزایش پیدا کرد. در این پژوهش راندمان پکتین استخراج شده از تفاله شاه‌توت تحت شرایط مختلف از 4/73 تا 7/68 % (بر اساس وزن خشک تفاله) تغییر پیدا کرد (جدول 2). اخیرا Chen و همکاران (2015) محدوده راندمان پلی‌ساکاریدهای خام استخراج شده به‌کمک اولتراسوند از پودر میوه شاه‌توت و رسوب داده شده توسط اتانول را بین 1/77 تا 3/07% گزارش کردند که از مقادیر بدست آمده در این پژوهش کمتر است. احتمالا دلیل این مسئله استفاده آنها از آب خنثی (اسیدی نشده) به‌عنوان حلال استخراج‌کننده (برخلاف محلول اسیدی با pH=2 در این پژوهش) بوده باشد. افزایش راندمان پکتین با افزایش زمان استخراج را می‌توان این طور تفسیر کرد که تورم و آبدار شدن ماده گیاهی می‌تواند در اثر کاویتاسیون ناشی از امواج فراصوت تسریع شود (Wang *et al*., 2012). متلاشی شدن نامتقارن حباب‌های خیلی ریز در نزدیکی سطوح ماده گیاهی ایجاد میکروجت‌هایی از حلال می‌کند که می‌تواند باعث شکستن دیواره سلولی و نفوذ بیشتر حلال به ماتریکس گیاهی شود که به نوبه خود باعث شستشو و تراوش بیشتر پکتین از ماده گیاهی به خارج (حلال احاطه‌کننده) شده و در نتیجه راندمان پکتین افزایش می‌یابد (Maran & Priya., 2014).

مطابق شکل 2، راندمان پکتین استخراج شده از تفاله شاه توت شدیدا تحت تاثیر شدت صوت قرار گرفته است به‌نحوی که با افزایش شدت صوت از 40 تا 100% در زمان و نسبت نمونه به حلال ثابت به ترتیب 40 دقیقه و 22/5 میلی‌لیتر بر گرم، راندمان پکتین به‌طور متوسط 26% افزایش پیدا کرد. بر طبق Xu و همکاران (2014)(2014)، با افزایش دامنه یا توان فراصوت،فروپاشی حباب کاویتاسیونی نیز شدیدتر می‌شود، زیرا اندازه حباب تشدیدشده متناسب با دامنه امواج اولتراسونیک است. متعاقبا شدت کاویتاسیون و فشار قویتر نیز باعث پاره شدن بیشتر دیواره سلولی و افزایش انتقال جرم می‌شود (Chen *et al*., 2015).

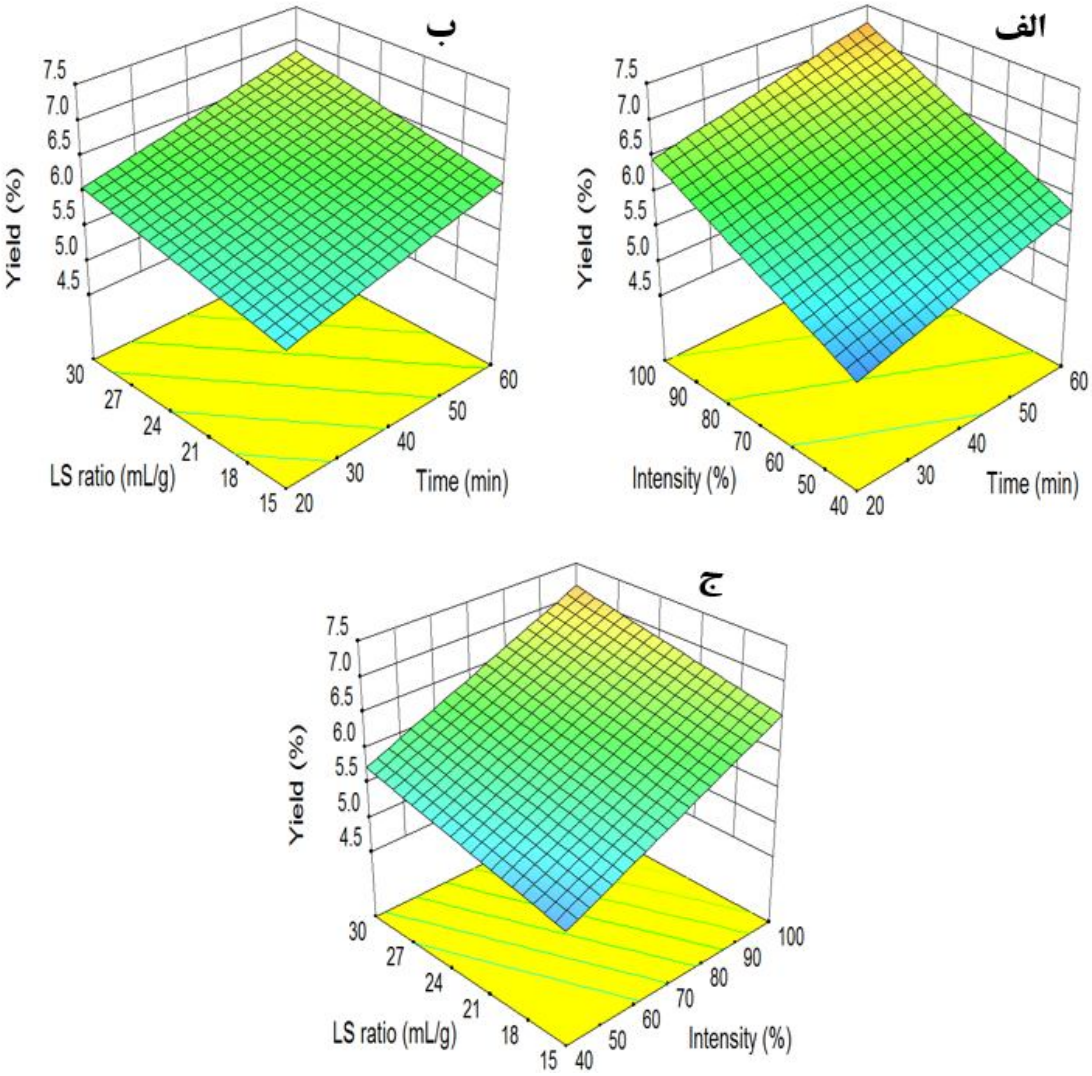
نسبت حلال به نمونه (LS ratio) پارامتر مهمی است که به‌صورت چشمگیری بر راندمان استخراج پکتین اثر می‌گذارد. Xu و همکاران (2014)، Prakash Maran & Priya (2014) و Moorthy و همکاران (2014) نیز در استخراج پکتین به‌کمک امواج اولتراسوند گزارش دادند که افزایش نسبت حلال به نمونه به‌ترتیب از 1:30 تا 1:50، از 1:20 تا 1:30 و از 1:10 تا 1:15 میلی‌لیتر بر گرم باعث افزایش معنی‌دار و سریع در راندمان پکتین شد، در حالیکه افزایش آن به بیشتر از مقادیر ذکر شده نه تنها تغییری در راندمان پکتین ایجاد نکرد بلکه برعکس باعث کاهش راندمان نیز شد. هرچه نسبت حلال به نمونه کمتر باشد غلظت و ویسکوزیته حلال استخراج‌کننده نیز بیشتر خواهد بود. شدت کاویتاسیون نیز با افزایش ویسکوزیته محیط کم می‌شود، زیرا شکل‌گیری کاویتاسیون نیازمند آن است که فشار منفی در منطقه رقیق تابع موج بر نیروهای چسبندگی طبیعی غلبه کند. از اینرو ایجاد کاویتاسیون در مایعات گرانرو که نیروهای چسبندگی قویتری دارند مشکل‌تر است (Majumdar *et al*., 1998; Gogate & Pandit., 2004). از سوی دیگر با افزایش نسبت حلال به نمونه متوسط شدت فراصوت اعمال شده بر بافت گیاهی در اثر تکه‌تکه شدن آن (بافت گیاهی) بیشتر می‌شود. با این حال در نسبت‌های حلال به نمونه خیلی بالا نرخ تخریب مولکول‌های پلیمر به دلیل غلظت کم آنها بیشتر شده و از این‌رو راندمان پکتین کاهش می‌یابد (Xu *et al*., 2014).

تاثیر شرایط استخراج بر روی درجه استری شدن پکتین

شرایط مختلف استخراج می‌تواند منجر به ایجاد تغییراتی در ساختار و خصوصیات پکتین شود. شکل 3 اثر شرایط استخراج به‌کمک اولتراسوند را بر روی DE پکتین نشان می‌دهد. همانطور که

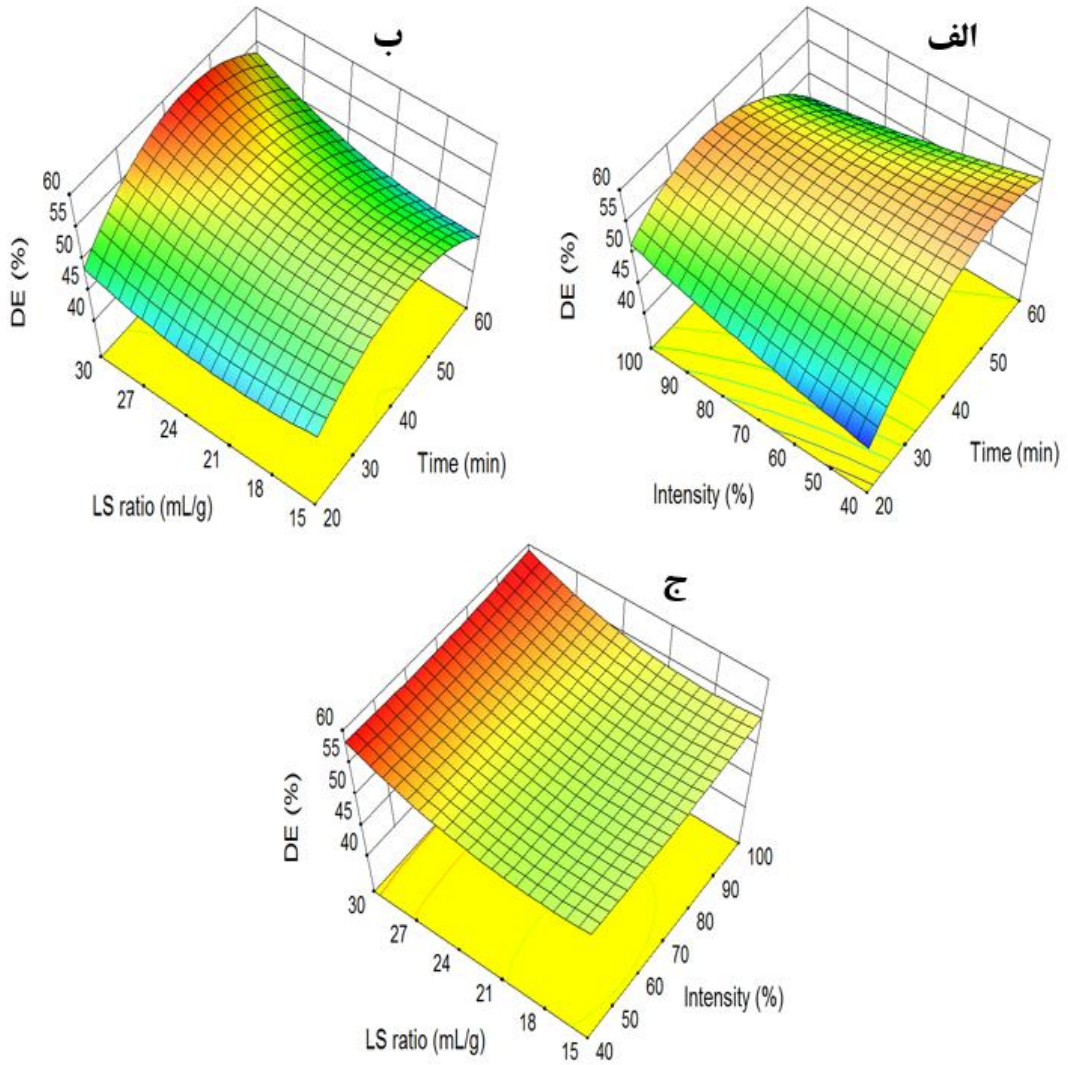
مشاهده می‌شود زمان استخراج به شکل یک منحنی درجه دوم بر روی DE پکتین اثر کرده است به‌گونه‌ای که افزایش زمان استخراج از 20 تا 40 دقیقه باعث افزایش DE و افزایش از 40 تا 60 دقیقه باعث کاهش DE گردیده است (شکل 3-الف). با افزایش شدت صوت نیز روند افزایشی در DE پکتین مشاهده می‌شود. هرچند که مطابق نتایج ANOVA (جدول 4)، اثرات اصلی (خطی) هیچ‌کدام از فاکتورهای نامبرده شده بر روی DE از نظر آماری معنی‌دار نیست (p>0/05).

باقریان و همکاران (2011) و Minjares-Fuentes و همکاران (2014)، نیز در استخراج پکتین به‌کمک اولتراسوند از پوست گریب‌فروت و تفاله انگور، تاثیر غیرمعنی‌دار افزایش زمان سونیکاسیون را به‌ترتیب در محدوده 25-5 و 60-20 دقیقه بر روی DE پکتین مشاهده کردند.



شکل 2- نمودارهای سطح پاسخ نشان دهنده اثرات شرایط استخراج به کمک اولتراسوند بر روی راندمان پکتین

شکل 3-ب و 3-ج نشان می‌دهد که می‌توان پکتینی با DE نسبتا بالا (58٪~) در نسبت‌های بالای حلال به نمونه بدست آورد. با این وجود، Choo و Chan (2013) تاثیر افزایش نسبت حلال به نمونه از 1:10 تا 1:25 میلی‌لیتر بر گرم را بر روی DE پکتین استخراج شده با روش مرسوم و در شرایط زمان و درجه حرارت استخراج به ترتیب 1/5 ساعت و 95°C از پوست میوه کاکائو، غیرمعنی‌دار گزارش کرده بودند.



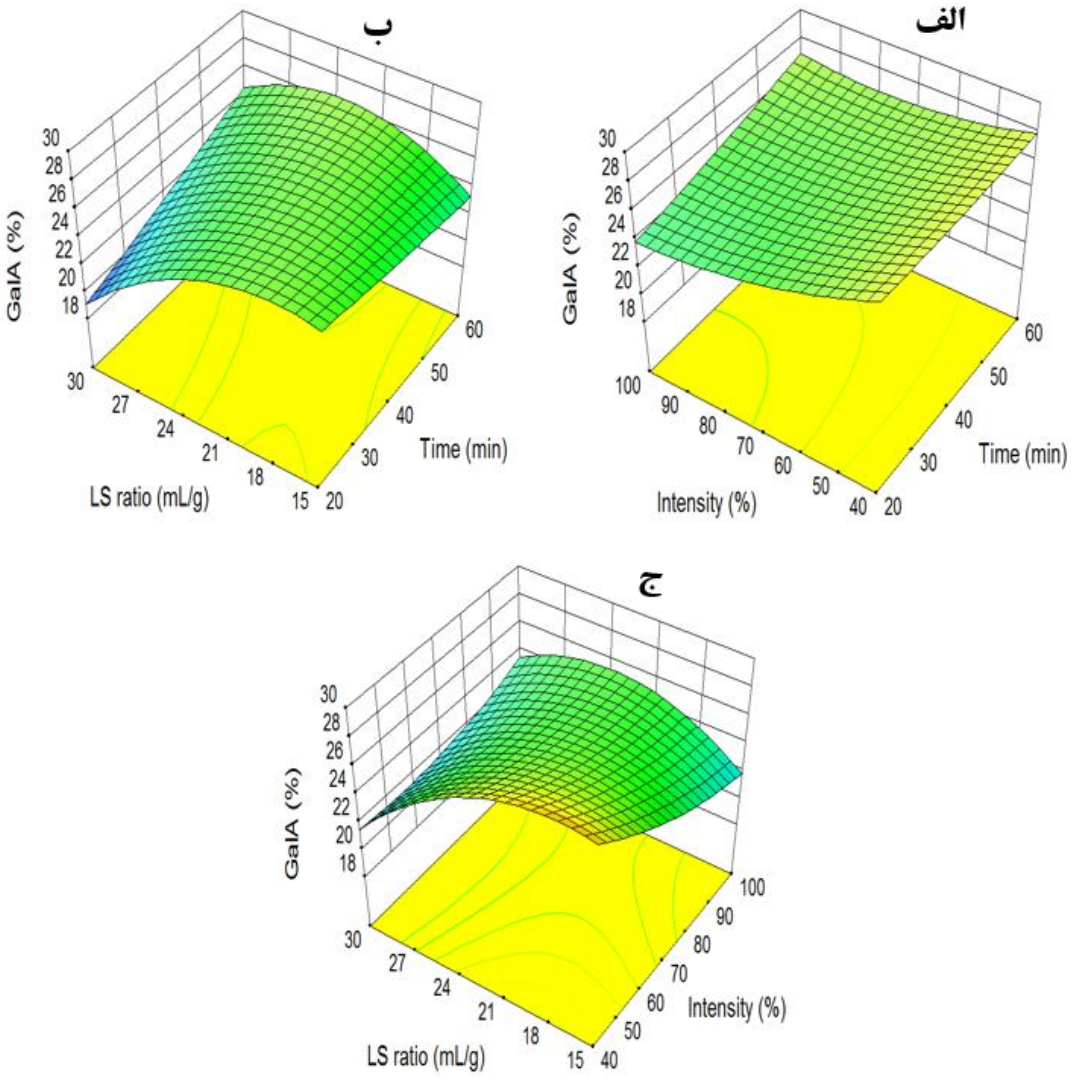
شکل 3- نمودارهای سطح پاسخ نشان‌دهنده اثرات شرایط استخراج به‌کمک اولتراسوند بر روی درجه استری شدن (DE) پکتین

اثر شرایط استخراج بر روی محتوای گالاکتورونیک اسید پکتین

محتوای گالاکتورونیک اسید (GalA) نشان‌دهنده خلوص پکتین استخراج شده است و مطابق سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (FAO) پکتین تجاری بایستی حاوی حداقل 65% GalA باشد (Maxwell *et al.*, 2012). در این پژوهش محتوای GalA پکتین بدست آمده از تفاله شاه‌توت تحت شرایط مختلف استخراج بین 18/70 تا 31/45% متغیر بود که نشان می‌دهد خلوص پکتین تا حدودی پایین است. طیف گسترده‌ای برای محتوای GalA پکتین میوه‌های خانواده توت گزارش شده است، برای مثال 50-20% برای پکتین استخراج شده از انگور فرنگی سیاه (Hilz *et al.*, 2005)، 49/7-37/4% برای پکتین استخراج شده از تفاله میوه‌های خانواده توت (انگور فرنگی قرمز و سیاه، تمشک و آقطی) (Cserjési *et al.*, 2011)، 9/55% برای پلی‌ساکاریدهای خام استخراج شده به‌کمک اولتراسوند از پودر میوه شاه‌توت (Chen *et al.*, 2015). احتمالا علت پایین بودن نسبی محتوای GalA، حضور مونوساکاریدهای دیگری (قندهای خنثی) مانند رامنوز، آرابینوز، گالاکتوز و ... باشد که مقادیر بالای این مونوساکاریدها برای پلی‌ساکارید استخراج شده از میوه شاه‌توت و توت سفید نشان داده شده است (Lee *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2015). استخراج در مقیاس آزمایشگاهی عموما

ملایم‌تر از هیدرولیز با اسید داغ در روش استخراج صنعتی است، از اینرو ساختار دست‌نخورده پکتین به‌همراه قندهای خنثی و نیز دیگر ترکیبات غیرپکتینی می‌تواند حفظ شود (Lin *et al*., 2016).

شکل 4 تاثیر شرایط استخراج به‌کمک اولتراسوند را بر روی محتوای GalA پکتین نشان می‌دهد. افزایش زمان استخراج منجر به افزایش محتوای GalA پکتین شد، هرچند که این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. مطالعات قبلی در استخراج پکتین با روش مرسوم نشان داده است که با افزایش زمان استخراج، محتوای GalA پکتین نیز به‌صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد (Garna *et al*., 2007; Liu *et al*., 2010; Liang *et al*., 2012; Chan & Choo, 2013). این موضوع به جدا شدن ترکیبات غیرپکتینی از پکتین (Constenla & Lozano, 2003) و نیز به افزایش هیدرولیز زنجیره‌های جانبی حاوی قندهای خنثی که جزئی از ساختار خود پکتین است (Chan & Choo, 2013)، نسبت داده شده است.



شکل 4- نمودارهای سطح نشان دهنده اثرات شرایط استخراج به کمک اولتراسوند بر روی محتوای گالاکتورونیک اسید (GalA) پکتین

اثر متقابل بین نسبت حلال به نمونه با هریک از فاکتورهای زمان استخراج و شدت صوت بر روی محتوای GalA را می‌توان به‌ترتیب در شکل 4-ب و 4-ج مشاهده کرد. نتایج ANOVA (جدول 4) و ضرایب رگرسیونی معادله مدل (معادله 6) نشان داد که با افزایش شدت صوت محتوای GalA پکتین در مجموع به‌صورت خطی کاهش و با افزایش نسبت حلال به نمونه نیز به‌صورت خطی افزایش

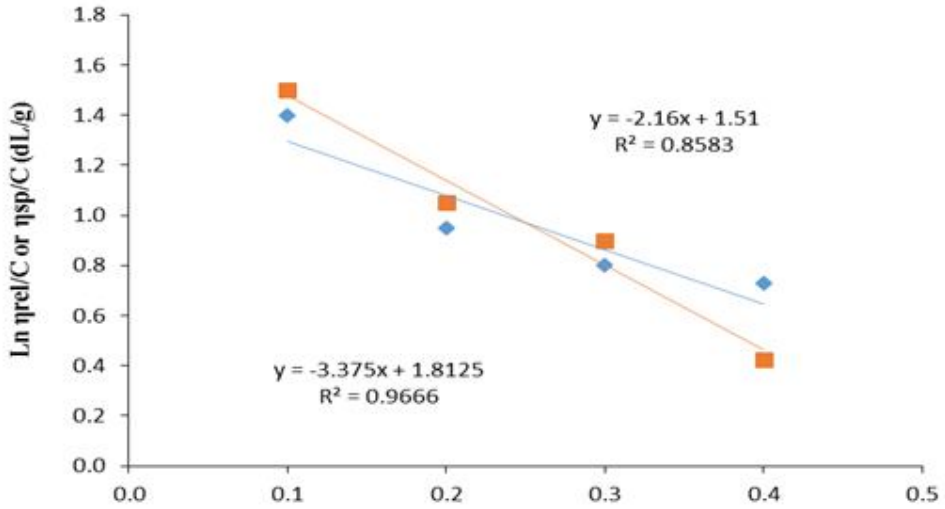
پیدا کرد ($p<0/05$).

نقطه بهینه استخراج

شرایط بهینه استخراج برای دستیابی به حداکثر راندمان، حداکثر DE و حداکثر محتوای GalA در استخراج پکتین به‌کمک اولتراسوند از تفاله شاه‌توت با استفاده از تابع مطلوبیت روش بهینه‌سازی عددی تعیین شد. تکنیک بهینه‌سازی عددی نقطه‌ای را معین می‌کند که در آن نقطه مقدار عددی تابع مطلوبیت ماکسیمم شود (Prakash Maran *et al*., 2013). برای این منظور متغیرهای مستقل مورد بررسی در محدوده آزمایش در نظر گرفته شدند. زمان استخراج 51 دقیقه، شدت صوت 100% و نسبت حلال به نمونه 30 میلی‌لیتر بر گرم به‌عنوان شرایط بهینه استخراج پکتین از تفاله شاه‌توت انتخاب شد. تحت شرایط بهینه، مقادیر راندمان، درجه استری شدن و محتوای گالاکتورونیک اسید پکتین به‌ترتیب 7/39%، 56/11%، و 25/46% با مطلوبیت 74/4% پیش‌بینی شد که با توجه به آزمایشات تاییدی انجام شده در دو تکرار تفاوت معنی‌داری بین مقادیر پیش‌بینی شده و مقادیر بدست آمده مشاهده نشد.

ویسکوزیته ذاتی ([η]) و وزن مولکولی متوسط (M_v)

شکل 5 نمودارهای هاگینز و کرامر را برای تعیین ویسکوزیته ذاتی پکتین نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود معادله کرامر برازش بهتری را نسبت به داده‌های آزمایشگاهی نشان داده است (R^2= 0/96). میانگین عرض از مبداء دو نمودار به‌عنوان ویسکوزیته ذاتی پکتین در نظر گرفته شد که برابر بود با 1/66 دسی‌لیتر بر گرم. با جایگزین کردن این مقدار در معادله Mark-Houwink-Sakurada، مقدار وزن مولکولی متوسط پکتین 50/03 kDa بدست آمد که در محدوده وزن مولکولی متوسط گزارش شده برای پکتین‌های تجاری (50-150 kDa) قرار می‌گیرد (Nussinovitch, 2005). با این وجود، این مقدار وزن مولکولی متوسط از مقادیر گزارش شده برای پکتین استخراج شده به کمک اولتراسوند در شرایط مشابه از پوست گریپ فروت (56/4-84/4 kDa، 109/54 kDa) و نیز از پالپ چغندر قند (89/4 kDa) کمتر است (Bagherian *et al*., 2011; Chen *et al*., 2015; Wang *et al*., 2015). وزن مولکولی پکتین بسته به ماده اولیه و روش استخراج آن ممکن است بسیار متغیر باشد (Barrett *et al*., 2004).



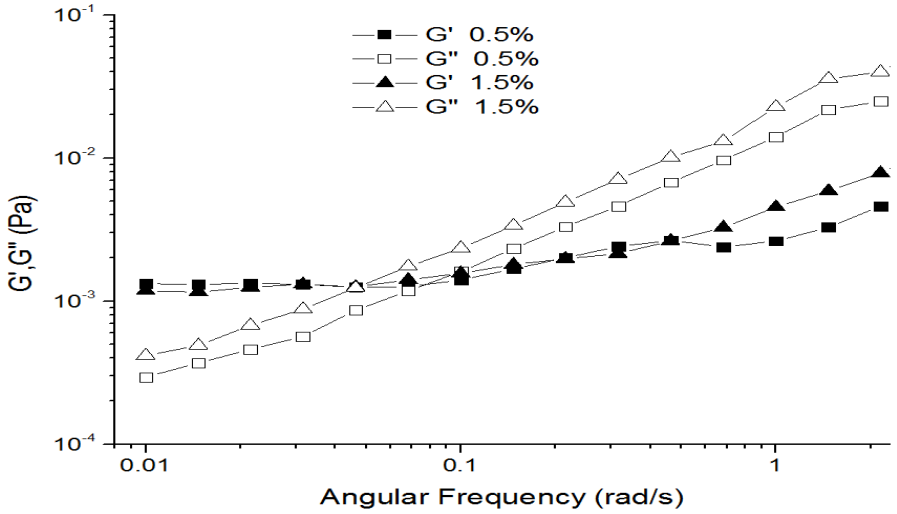
شکل 5- نمودارهای هاگینز و کرامر برای پکتین استخراج شده از تفاله شاه‌توت

خواص رئولوژیک

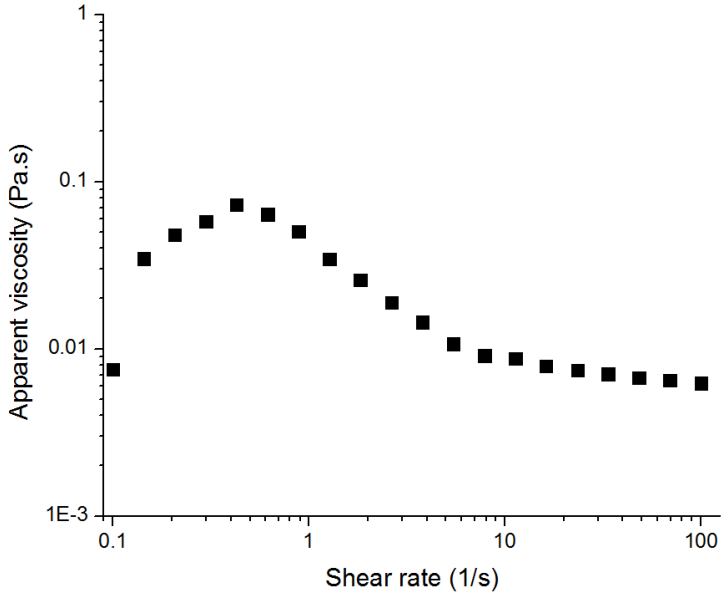
آزمون روبش فرکانس در محدوده 100-0/01 رادیان بر ثانیه (داده‌های مربوط به فرکانس‌های بالاتر از 2 رادیان بر ثانیه نشان داده نشده است) بر روی نمونه‌ای از پکتین استخراج شده از تفاله شاه توت در غلظت‌های 0/5 و 1/5% و در کرنش و درجه حرارت ثابت به ترتیب 1% و 25°C انجام شد. شکل 6 تغییرات مدول‌های الاستیک (G') و ویسکوز (G") را به‌صورت تابعی از فرکانس نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود دیسپرسیون پکتین تفاله شاه‌توت در هر دو غلظت آزمایش شده رفتار یک ماده ویسکوالاستیک را از خود نشان داده است و بین مدول‌های G' و G" در محدوده فرکانس‌های کم (تقریبا 0/07-0/05 رادیان بر ثانیه) تقاطع رخ داده است. فرکانس تقاطع مدول‌های G' و G" شاخص خوبی برای رفتار ویسکوالاستیک یک ماده است (Iagher *et al*., 2002) و شروع رفتار الاستیک یا نزدیک شدن حال ژل را نشان می‌دهد (Norziah *et al*., 2001).

هرچه فرکانس تقاطع پایین‌تر باشد سهم ویژگی الاستیک یک ماده نسبت به‌ویژگی ویسکوز آن بیشتر می‌شود (Iagher *et al*., 2002).

شکل7 منحنی ویسکوزیته ظاهری بر حسب سرعت برش را برای دیسپرسیون پکتین در غلظت 1/5 % وزنی/ حجمی نشان می‌دهد. اگر قسمت اولیه افزایش کاذب در ویسکوزیته را که ناشی از خطای اندازه‌گیری دستگاه است در نظر نگیریم، مقدار عددی ویسکوزیته ظاهری محلول پکتین با افزایش سرعت برش در محدوده 100-0/5 بر ثانیه با شیب تند کاهش یافته و در سرعتهای برش خیلی بالا تقریبا ثابت باقیمانده است. این روند نشان‌دهنده رفتار غیرنیوتنی از نوع رقیق‌شوندگی با برش در سرعت‌های برش کم (تقریبا کمتر از 10) و رفتار نیوتنی در سرعت‌های برش بالا (تقریبا بین 10 تا 100) می‌باشد. رفتار رقیق‌شوندگی با برش برای پکتین‌های استخراج شده از دیگر مواد گیاهی از جمله پالپ توت‌سیاه، پوست غلاف کاکائو وسیب نیز گزارش شده است (Hwang & Kokini, 1992; Min *et al*., 2011; Vriesmann *et al*., 2012; Haminiuk *et al*., 2008).



شکل 6- تغییرات مدول‌های 'G و "G با فرکانس زاویه‌ای برای نمونه پکتین استخراج شده از تفاله شاه‌توت در غلظت 0/5 و 1/5درصد و در کرنش و درجه حرارت ثابت به ترتیب 1% و 25°C



شکل 7- منحنی ویسکوزیته محلول پکتین استخراج شده از تفاله شاه‌توت در غلظت 1/5درصد وزنی/ حجمی و دمای 25 °C

نتیجه‌گیری

استخراج به‌کمک اولتراسوند (UAE) به‌عنوان یک جایگزین بالقوه روش مرسوم استخراج، برای جداسازی پکتین از تفاله شاه توت در این پژوهش به‌کار گرفته شد و شرایط استخراج با استفاده از یک طرح مرکب مرکزی با 3 فاکتور در 3 سطح بهینه‌سازی شد. نتایج نشان داد که زمان استخراج، شدت صوت و نسبت نمونه به حلال هر سه شدیدا بر روی راندمان استخراج پکتین اثرگذار هستند و راندمان با افزایش هرسه پارامتر به‌صورت خطی افزایش پیدا کرد که سهم شدت صوت در استخراج پکتین به مراتب بیشتر از دو پارامتر دیگر بود. پکتین استخراج شده از تفاله شاه‌توت دارای درجه استری شدن کم تا متوسط و خلوص نسبتا پایین در شرایط آزمایشی بود که با وجود این در آزمایشات رئولوژیک نشان داد که دارای خواص ویسکوالاستیک و قدرت تشکیل ژل در غلظت‌های کم است.

منابع

Anger H, Berth G (1986) Gel permeation chromatography and the Mark-Houwink relation for pectins with different degrees of esterification. *Carbohydrate polymers* 6(3): 193-202.

Bochek, A.M., Zabivalova, N.M., & Petropavlovskii, 2001, Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 74(5), 796-799.

Belafi-Bako, K., Cserjesi, P., Beszedes, S., Csanadi, Z., Hodur, C., 2012, Berry pectins: microwave-assisted extraction and rheological properties, *Food Bioprocess Technology*, 5, 1100-1105.

Bagherian, H., Zokaee Ashtiani, F., Fouladitajar, A., & Mohtashami, M., 2011, Comparisons between conventional, microwave and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50, 1237-1243.

Barrett, D.M., Somogyi, L., & Ramaswamy, H., 2004, Processing fruits: science and technology, second edition, CRC press, chapter 6, p. 114.

Cserjési, P., Bélafi-Bakó, K., Csanádi, Z., Beszédes, S., Hodúr, C., 2011, Simultaneous recovery of pectin and colorants from solid agro-wastes formed in processing of colorful berries. *Prog. Agri. Eng. Sci*. 7, 65-80.

Chan, C-Y., Choo, W-S., 2013, Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chemistry*, 141, 3752-3758.

Ganesh Moorthy, I., Prakash Maran, J., Muneeswari Surya, S., Naganyashree, S., Shivamathi, C.S., 2014, Response surface optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, Article in press.

Hilz, H., Bakx, E., Schols, H., & Voragen, A., 2005, Cell wall polysaccharides in black currants and bilberries—characterisation in berries, juice, and press cake. Carbohydrate Polymers, 59, 477–488.

Hojjatpanah, G., Fazaeli, M., and Emam-Djomeh, Z., 2011, Effects of heating method and conditions on the quality attributes of black mulberry (*Morus nigra*) juice concentrate. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 956-962.

Haminiuk, C.W.I., Sierakowski, M-R., Izidoro, D., Maciel, G.M., Scheer, A.P., & Masson, M.L., 2008, Effect of heat treatment on pectic fractions and apparent viscosity of whole blackberry (*Rubus* spp.) pulp. *International Journal of Food Engineering*, 4(4), Article 13.

Iagher, F., Reicher, F., & Ganter, J.L.M.S., 2002, Structural and rheological properties of polysaccharides from mango (Mangifera indica L.) pulp. *International Journal of Biological Macromolecules*, 31, 9–17.

Ibarz, A., Pagan, A., Tribaldo, F., Pagan, J., 2006, Improvement in the measurement of spectrophotometric data in the m-hydroxydiphenyl pectin determination methods, *Journal of Food Control*, 17, 890–893.

Imran, M., Khan, H., Shah, M., Khan, R., and Khan, F., 2010., Chemical composition and antioxidant activity of certain Morus species. Journal of Zhejiang University-Science B (*Biomedicine & Biotechnology*), 11(12)- 973-980.

Koubala, B. B., Kansci, G., Mbome, L. I., Crépeau, M.-J., Thibault, J.-F., & Ralet, M.-C., 2008, Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from “Améliorée” and “Mango” mango peels. *Food Hydrocolloids*, 22, 1345-1351.

Koocheki, A., Taherian, A.R., Razavi, S.M.A., Bostan, A., 2009, Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from Lepidium perfoliatum seeds. *Food Hydrocolloids*, 23, 2369-2379.

Landbo, A. K., & Meyer, A. S., 2001, Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenols from black currant juice press residues (*Ribes nigrum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3169–3177.

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 (4), 548–552.

Liu, L., Cao, J., Huang, J., Cai, Y., and Yao, J., 2010, Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. *Bioresource Technology*, 101, 3268-3273.

Lee, J.S. et al. (2013), Purification, characterization and immunomodulating activity of a pectic polysaccharide isolated from Korean mulberry fruit Oddi (*Morus alba* L.*), International Immunopharmacology*, 17, 858–866

Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Garau, M.C., Meza-Velazquez, J.A., Simal, S., Rosello, C., 2014, Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: A response surface methodology approach, *Carbohydrate Polymers*, 106, 179–189.

Nussinovitch, A., 1997, Hydrocolloid applications: gum technology in the food and other industries, first edition, Springer-Science+Business Media, B.V., chapter 4, p. 93

Norziah, M., Kong, S.S., Abd Karim, A., & Seow, C.C., 2001, Pectin–sucrose–Ca2+ interactions: effects on rheological properties. *Food Hydrocolloids*. 15(4-6),491–498.

Nwabueze, T.U., 2010, Review article: Basic steps in adapting response surface methodology as mathematical modelling for bioprocess optimisation in the food systems, International *Journal of Food Science & Technology*, 45(9), 1768-1776.

Panchev, I., Kirchev, N., Kratchanov, C., 1988, Improving pectin technology.: II. Extraction using ultrasonic treatment, *Journal of Food Science and Technology*, 23, 337–341.

Panchev, I., Kirchev, N., Kratchanov, C., 1994, On the production of low esterified pectins by acid maceration of pectic raw materials with ultrasound treatment. *Journal of Food Hydrocolloids*, 8, 9-17.

Pérez-Gregorio, M.R., Regueiro, J., Alonso-González, E., Pastrana-Castro, L.M., Simal-Gándara, J., 2011, Influence of alcoholic fermentation process on antioxidant activity and phenolic levels from mulberries (*Morus nigra* L.). LWT - *Food Science and Technology*, 44, 1793-1801.

Prakash Maran, J., Sivakumar, V., Thirugnanasambandhama, K., & Sridhar, R., 2013, Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate Polymers*, 97, 703-709.

Prakash Marana, J., & Priya, B., 2014, Ultrasound-assisted extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers*, Article in press.

Rosenbohm, C., Lundt, I., Christensen, T. M. I. E., & Young, N. W. G., 2003, Chemically methylated and reduced pectins: preparation, characterisation by 1H NMR spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties. *Carbohydrate Research*, 338, 637e649.

Shaha, R.K., Yoga Nayagi A.P. Punichelvana, and Asrul Afandi, 2013, Optimized extraction condition and characterization of pectin from kaffir lime (*Citrus hystrix*), *Research Journal of Agriculture and Forestry Sciences*, 1(2), 1-11.

Thakur, B.R., Singh, R.K., Handa, A.K., 1997, Chemistry and uses of pectin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37, 47–73.

Toma, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L., Mason, T.J., 2001, Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8, 137–142.

Willats, W.G.T., Knox, J.P., & Mikkelsen, J.D., 2006, Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel, *Trends in Food Science & Technology*, 17, 97-104.

Wu, H., Hulbert, G.J., Mount, J.R., 2001. Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yoghurt starter. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol*. 1, 211–218.

Xu, Y., Zhang, L., Bailina, Y., Ge, Z., Ding, T., Ye, X., & Liu, D., 2014, Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel, *Journal of Food Engineering*, 126, 72–81.

Yang, B., Liu, X., Gao, Y., 2009, Extraction optimization of bioactive compounds crocin, geniposide and total phenolic compounds from Gardenia Gardenia jasminoides Ellis fruits with response surface methodology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 610–615.

Ying, Z., Han, X., Li, J., 2011, Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *Food Chemistry*, 127, 1273–1279.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 594-610

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 610-594

Optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from black mulberry (*Morus nigra.L*) pomace

V. Mosayebi[1*], Z. Emam Djomeh[2]

Received: 2015.10.09
Accepted: 2016.02.13

Introduction: Pectin is a complex heteropolysaccharide presented naturally in the middle lamella and primary cell walls of plant tissues. Pectin is mostly composed of a linear backbone of α-(1, 4) linked D-galacturonic acid residues which are partially esterified with methyl alcohol or acetic acid at the carboxylic acid. Pectin is widely used as a gelling agent in food systems such as jams and jellies, fruit juices, confectionaries, bakery fillings and as a stabilizer in acidified milk drinks. Black mulberry (*Morus nigra.L*), originating from Iran, is a juicy fruit with dark red color and slightly acidic flavor. Black mulberry has gained an important position in fruit markets and food industry due to its distinctive flavor and phytonutrients in recent years. Black mulberries can be consumed as fresh or processed into several products such as juice, marmalades, liquors, natural dyes or even be used as frozen fruit in ice cream production. However, due to short harvesting season and susceptibility to spoilage, black mulberries are mostly processed into juice besides its fresh consumption. Press cake residue or pomace is the main by-product which is generated in large amounts from the commercial juice extraction processes from berry fruits which contain several bioactive compounds and valuable ingredients including antioxidants, phenolics, pigments, pectin and so on. These berry pomaces are considered suitable for pectin recovery although their pectin content is somewhat lower in comparison to rich known sources of pectin. Recently, ultrasound assisted extraction technique, as a novel method of extraction, has gained remarkable attention due to its some advantageous effects including shorter extraction time, reduced solvent and energy consumption and higher yield and better quality of extracted compounds as compared to conventional acid extraction method. Therefore, the present work was aimed to evaluate and optimize the ultrasound assisted extraction parameters (time of extraction, ultrasound power and liquid/solid ratio) to maximize the extraction yield, degree of esterification and galacuronic acid content of pectin from black mulberry pomace using three level three factor face centered central composite design.

Materials and methods: Fresh and fully ripe black mulberry fruits were purchased from a local fruit market in Karaj (Iran) and subsequently pressed to separate pomace from juice. The obtained pomace was then vaccuum dried (until 7.8±1% moisture content), ground to obtain a homogenous powder, sieved, filled into polyethylene containers, and stored at refrigerator. Pectin extraction from this powdered pomace was carried out using an ultrasonic bath at operating frequency of 35 kHz under different parameters including extraction time (20-60 min), ultrasonic intensity (40-100%) and liquid-solid ratio (15:1 to 30:1 mL/g). The initial pH value of the solution was adjusted to 2.0 by adding 1.0 N HCl solution. At the end of extraction, extracts were quickly cooled, centrifuged, filtered using Buchner funnel, concentrated by 5 fold, coagulated with 96% ethanol (ER=1.5) and left for 8 hours in room temperature. The precipitated pectin was separated by Buchner funnel, rinsed twice with 96% ethanol, dried under vacuum (45°C) and finally powdered. The degree of esterification of pectin was determined by titrimetric method according to Bochek et al. (2001). The galacturonic acid content was quantified by the colorimetric method with m-hydroxydiphenyl reagent using a spectrophotometer at 520 nm. The intrinsic viscosity [η] of pectin was determined using a capillary tube viscometer and accordingly the viscosity average molecular weight [M_v] was calculated from the Anger-Berth equation. Finally, the frequency sweep test was performed using a controlled stress rheometer to determine the values of storage modulus (G′) and loss modulus (G″). The experimental design and statistical analysis were performed using response surface methodology (RSM).

1. MSc graduated in Food Science, Department of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2. Professor, Department of Food Science & Technology, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
(*Corresponding Author Email: emamj@ut.ac.ir)

Results and discussion: According to the obtained results, the extraction yield, degree of esterification and galacturonic acid content of pectin varied in the range of 4.73-7.68%, 42.42-58.33 and 18.70-31.45%, respectively. The extraction yield of pectin was linearly affected by the extraction conditions and its value significantly increased with increasing all the studied independent variables ($p<0.0001$). The optimized conditions for highest predicted values of pectin yield (7.39%), degree of esterification (56.11%) and galacturonic acid content (25.46%) of pectin from black mulberry pomace were determined to be extraction time of 51.04 min, ultrasound intensity of 100% and liquid-solid ratio of 30:1 mL/g. The validation experiments were conducted and no significant difference was found between the observed values and the model predicted values. The rheological tests showed characteristic behaviors of shear thinning and viscoelastic for the extracted pectin sample. In addition, its intrinsic viscosity ([η]) and viscosity average molecular weight (M_v) were found to be 1.52 dL/g and 44.5 kDa, respectively.

Key words: Black Mulberry Pomace, Pectin, Yield, Galacturonic Acid Content, Optimization, Rheological Properties.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 611-626

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 626-611

ارزیابی خصوصیات کاربردی فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی نشاسته حاوی مونت‌موریلونیت و تیتانیوم‌دی‌اکسید

سیّد امیر اولیایی[1 و 2]- بابک قنبرزاده[3*]- علی‌اکبر مؤیدی[4]- پریسا پورثانی[2]- سیده فاطمه موسوی بایگی[2]- محمّدرضا بخش‌امین[5]

تاریخ دریافت: 1394/09/19
تاریخ پذیرش: 1395/02/04

چکیده

در این پژوهش برای بهبود ویژگی‌های کاربردی فیلم‌های بر پایه نشاسته سیب‌زمینی نرم‌شده (PS) از نانوذرات سدیم مونت‌موریلونیت (MMT) در دو غلظت 3 و 5 درصد و تیتانیوم‌دی‌اکسید (TiO_2) در سه سطح 0/5، 1 و 2 درصد (وزنی/ وزنی نشاسته) به‌صورت توأم استفاده شد و ویژگی‌های ساختاری و فیزیکی آنها مورد مطالعه قرار گرفت. آزمون پراش پرتو X، تغییر نحوه پخش لایه‌های MMT از ورقه‌ای کامل در فیلم دوجزئی PS-5MMT به ورقه‌ای بین‌لایه‌ای در فیلم‌های سه‌جزئی PS-5MMT-TiO_2 را تأیید نمود. نتایج آزمون مکانیکی نشان داد که افزایش غلظت TiO_2 در فیلم‌های PS-3%MMT باعث کاهش کشش‌پذیری و افزایش استحکام کششی شده است، اما در فیلم‌های PS-5%MMT، هر دو ویژگی مکانیکی فیلم کاهش یافته است. با افزودن MMT و TiO_2 مقدار انحلال‌پذیری در آب و جذب رطوبت به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. همچنین نفوذپذیری نسبت به بخار آب کاهش معنی‌داری را از $5/84\times10^{-7}$ g/m.h.Pa در فیلم دوجزئی PS-3%MMT به $3/04\times10^{-7}$ g/m.h.Pa در فیلم سه‌جزئی PS-3MMT-2TiO_2 نشان داد. نتایج آزمون زاویه تماس قطره آب، یافته‌های آزمون‌های جذب رطوبت، حلالیت در آب و نفوذپذیری نسبت به بخار آب را تأیید نمود و نشان داد که افزودن TiO_2 سبب افزایش آبگریزی سطحی فیلم‌های نشاسته‌ای حاوی نانورس شده است به‌طوری‌که با افزودن 2 درصد تیتانیوم‌دی‌اکسید به فیلم PS-3%MMT و PS-5%MMT زاویه تماس قطره آب پس از 60 ثانیه به ترتیب 4 و 15 درجه افزایش یافت. نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که خواص عملکردی فیلم های نشاسته را می توان با افزودن توأم نانوذرات MMT و TiO_2 بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی، آبگریزی، حلالیت، ویژگی‌های مکانیکی، نفوذپذیری.

مقدمه

پیشرفت چشمگیر صنایع پتروشیمی و فنّاوری‌های مربوط به تولید پلیمرهای سنتزی، موجب کاربرد گستردهٔ مواد پلاستیکی در بسته‌بندی شده است به‌طوری که بیش از 42 درصد از کل مواد پلاستیکی جهان در بخش بسته‌بندی استفاده شده و بسته‌بندی مواد غذایی با به‌کارگیری حدود 47 درصد از مواد پلاستیکی صنعت بسته‌بندی، بزرگ‌ترین بازار مصرف مواد پلاستیکی است. بسته‌بندی‌های پلاستیکی ویژگی‌های مطلوب موردنظر در بسته‌بندی مواد غذایی مانند خواص مکانیکی مناسب و نفوذپذیری کم در مقابل رطوبت را دارا می‌باشند (Rhim, 2007). از طرفی تجزیه مواد پلاستیکی سنتزی در طبیعت فرآیندی بسیار کند است که درنتیجه سبب ایجاد مشکلات زیست‌محیطی می‌شود (Shan *et al.*, 2009). از دیگر معایب این بسته‌بندی‌ها، مهاجرت برخی از ترکیبات مورد استفاده در فرمولاسیون آنها به درون ماده غذایی می‌باشد که سبب ایجاد طعم بد، افت ایمنی بهداشتی و صدمه به سلامت مصرف‌کنندگان می‌شود (Vergnaud, 1998)، بنابراین در سال‌های اخیر یافتن جایگزین‌های مناسب زیست‌تخریب‌پذیر برای پلاستیک‌های سنتزی، توجه پژوهشگران را به‌خود معطوف نموده

1- پژوهشگر، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد.
2- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
3- استاد، گروه شیمی مواد غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
4- استادیار، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد
5- مدیر کنترل کیفیت، شرکت کشت و صنعت تماته، کارخانه رب خوشاب خراسان.
(* - نویسنده مسئول Email: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.52110

است. فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر حاصل از منابع کشاورزی تجدیدپذیر، انتخاب مناسبی برای این امر هستند (Ghanbarzadeh *et al.*, 2014). از دیگر مزایای استفاده از این منابع، می‌توان به کاهش ضایعات کشاورزی و ایجاد کاربردی جدید برای پسماندهای کشاورزی اشاره نمود که از دفن مواد قابل بازیافت و قابل کمپوست ممانعت می‌کند. نشاسته یکی از مهم‌ترین زیست‌پلیمرهای مورد استفاده در بسته‌بندی‌های زیستی است. علیرغم خواص مناسب نشاسته در تولید فیلم، خواص مکانیکی و بازدارندگی نسبت به بخار آب نسبتاً ضعیف این فیلم‌ها باعث عدم امکان استفاده از این ترکیبات در مقیاس صنعتی شده است. در رطوبت‌های نسبی پائین و متوسط، فیلم‌های نشاسته‌ای ویژگی‌های مکانیکی خوبی دارند و همچنین بازدارندهٔ مناسبی در مقابل نفوذ اکسیژن، دی‌اکسیدکربن و مواد معطر می‌باشند؛ اما به‌دلیل داشتن ماهیت آب‌دوست، بازدارندگی آنها نسبت به بخار آب ضعیف است (Ghanbarzadeh *et al.*, 2014). بنابراین، توسعه دانش و فناوری‌های مربوط به پلاستیک‌های زیستی و بهبود خواص آنها جهت دستیابی به استانداردهای مواد بسته‌بندی سنتزی، ضروری به‌نظر می‌رسد. مهم‌ترین خواص مورد نظر شامل خواص مکانیکی و نفوذپذیری نسبت به بخارآب و گازها (اکسیژن و دی‌اکسیدکربن) می‌باشد.

تولید نانوکامپوزیت‌های زیست‌پلیمری حاوی پرکننده‌های دارای ابعاد نانومتری، یکی از جدیدترین روش‌های بهبود خواص کاربردی فیلم‌های زیست‌پلیمری می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که استفاده از نانو پرکننده‌ها، موجب بهبود ویژگی‌هایی مانند بازدارندگی در مقابل گازها، مقاومت حرارتی، سختی و چقرمگی[1] شده است (Ghanbarzadeh et al., 2015). متداول‌ترین سیلیکات لایه‌ای مورد استفاده در تولید نانوکامپوزیت‌های زیست‌پلیمری، مونت‌موریلونیت می‌باشد. مونت‌موریلونیت[2] (MMT) نانوماده‌ای زیست‌سازگار، دارای قیمت پایین و فرآیندپذیر است. با توجه به اندازهٔ ضخامت (1 نانومتر) و طول (20 نانومتر تا چندین میکرومتر)؛ مولکول مونت‌موریلونیت دارای نسبت منظر[3] 1000-50 و سطح مخصوص 800 m^2/g می‌باشد و به‌دلیل داشتن گروه‌های عاملی آب‌دوست، تمایل زیادی به ترکیب با نشاسته دارد. مطالعات متعددی دربارهٔ اثر افزودن نانولایه‌های مونت‌موریلونیت بر خواص بازدارندگی و مکانیکی فیلم‌های نشاسته‌ای انجام شده است (Almasi et al., 2010؛ نوشیروانی و همکاران، 1390). Maksimov و همکاران (2009) اثر غلظت‌های مختلف مونت‌موریلونیت بر نفوذپذیری نسبت به بخار آب و خواص مکانیکی فیلم‌های نانوکامپوزیتی بر پایه نشاسته را بررسی کردند. آنها دریافتند که با افزایش میزان مونت‌موریلونیت، میزان استحکام کششی و مدول یانگ نانوکامپوزیت‌ها به‌ترتیب 1/9 و 2/6 برابر افزایش و کرنش تا نقطهٔ شکست به میزان 43 درصد کاهش یافت. همچنین با افزودن نانورس به ماتریس نشاسته خواص بازدارندگی فیلم نسبت به جذب و عبور مولکول‌های آب افزایش یافت.

بهبود ویژگی‌های کاربردی فیلم‌های زیست‌پلیمری توسط نانوذرات فلزی از جمله تیتانیوم‌دی‌اکسید (TiO_2) در سال‌های اخیر، مورد توجه قرار گرفته است (Li et al., 2011; Zhou et al., 2009; Zolfi et al., 2014). نانوذرات TiO_2 غیرسمّی و دارای فعالیت ضدمیکروبی علیه انواع میکروارگانیسم‌ها هستند و در صنعت مواد غذایی به‌عنوان یک افزودنی در نظر گرفته می‌شوند. کاربرد TiO_2 در مواد غذایی و سطوح در تماس مستقیم با آن توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA)، اتحادیه اروپا و استاندارد کدکس تأیید شده است (Li et al., 2011). روی سطح نانوذرهٔ TiO_2 گروه‌های دارای بار مثبت وجود دارد، بنابراین این نانوذره ماهیت قطبی دارد و با بیوپلیمرهای طبیعی مانند نشاسته سازگار است. زلفی و همکاران (2014) نیز گزارش نمودند که با افزودن 5-1 درصد وزنی TiO_2 به فیلم زیست‌پلیمری کفیران-ایزوله پروتئین آب پنیر میزان رطوبت، جذب رطوبت، حلالیت در آب و نفوذپذیری نسبت به بخار آب به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. آنها مشاهده نمودند که با افزایش غلظت نانوذرات مقاومت به کشش و مدول یانگ کاهش و افزایش طول تا نقطه شکست افزایش می‌یابد. نتایج مشابهی توسط Li و همکاران (2011) و Zhou و همکاران (2009) درباره اثر نانوذرات TiO_2 بر خواص فیلم پروتئین آب پنیر گزارش شده است.

اگرچه تأثیر هر یک از این نانومواد (مونت‌موریلونیت و TiO_2) به‌تنهایی بر خواص ساختاری، مکانیکی و بازدارندگی فیلم‌ها مورد بررسی قرار گرفته است، اما تاکنون گزارش چاپ شده‌ای دربارهٔ استفاده همزمان آنها به‌عنوان پرکننده در یک فیلم زیست‌پلیمری و به‌ویژه نشاسته ارائه نشده است.

در این پژوهش، فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیت بر پایه نشاسته حاوی مخلوط مونت‌موریلونیت و نانوذرات TiO_2 تهیه و تأثیر نوع و درصد نانوذرات بر خصوصیات کاربردی مانند بازدارندگی نسبت به بخار آب، آب‌دوستی سطحی، ویژگی‌های مکانیکی و نحوه پراکنش نانوذرات در فیلم‌های تولید شده مورد ارزیابی قرار گرفته است. لازم به ذکر است که پیشتر اثر مخلوط نانوذرات مونت‌موریلونیت و TiO_2 بر خواص نوری (رنگ، کدورت و عبور پرتوهای فرابنفش)، حرارتی (دمای انتقال شیشه‌ای و ذوب)، مورفولوژی و توپوگرافی سطح فیلم‌ها و پیوندهای شیمیایی بین نانوذرات و نشاسته مورد مطالعه قرار گرفته است (اولیایی و همکاران، 1395).

1 Toughness
2 Montmorillonite
3 Aspect ratio

مواد و روش‌ها

نشاسته سیب‌زمینی دارای رطوبت 12 درصد، گرانروی 410 cP و وزن مولکولی 106 Da از شرکت صنایع تبدیلی الوند همدان تهیه شد. سدیم‌مونت‌موریلونیت ($Closite\ Na^+$) یا مونت‌موریلونیت اصلاح نشده از شرکت Nanocore (Arlington Heights, IL) خریداری گردید. نانوذرات TiO_2 (دگوسا P25) دارای متوسط اندازه نانوذرات 21nm و مساحت سطح واکنش $50\pm15\ m^2/gr$ حاوی 80 درصد فرم بلوری آناتاز و 20 درصد فرم روتایل، از شرکت Evonik Degussa GmbH تهیه شد. گلیسرول، سولفات کلسیم و سولفات پتاسیم شرکت Merk آلمان مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه فیلم زیست‌نانوکامپوزیت نشاسته

ابتدا به‌طور جداگانه سوسپانسیون‌های اولیه 1 درصد نانورس و 1 درصد TiO_2 در آب به روش وزنی/ حجمی تهیه شدند. سپس سوسپانسیون‌ها توسط همزن مغناطیسی با سرعت 800 rpm به مدت 6 ساعت همزده شدند و 60 دقیقه داخل حمام آبی دستگاه اولتراسوند قرار گرفتند. 4 گرم نشاسته به 80 ml آب مقطر افزوده شده و به مدت 15 دقیقه در حمام آبی دارای دمای 80 °C همراه با همزدن حرارت داده شد. به ژل تشکیل‌شده مقدار مناسبی از سوسپانسیون مادر نانورس (درصدهای مختلف 3 و 5 درصد وزنی/ وزنی نشاسته) و سوسپانسیون مادر TiO_2 (0/5، 1 و 2 درصد وزنی/ وزنی نشاسته) و آب مقطر به‌صورت قطره‌قطره و همراه با همزدن اضافه گردید. از پمپ خلأ جهت خروج حباب‌های هوا استفاده شد. 2 ml گلیسرول (50 درصد وزن نشاسته) به‌عنوان نرم‌کننده به ژل اضافه و به مدت 60 ثانیه با سرعت 500rpm توسط همزن مغناطیسی همزده شد. 23 گرم از ژل داخل پتری دیش پلی‌استایرنی با قطر 10 cm ریخته شد. پتری دیش‌ها به‌مدت 15 ساعت در آون 45 °C قرار گرفتند و سپس فیلم خشک شده به‌آرامی از سطح آنها جدا گردید.

ضخامت فیلم

ضخامت فیلم‌ها با استفاده از میکرومتر Alton ساخت (چین) با دقت 0/01 mm تعیین شد. اندازه‌گیری در 5 نقطه مختلف فیلم انجام گرفت و سپس میانگین نتایج در آزمون‌های مکانیکی و نفوذپذیری نسبت به بخار آب مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون پراش پرتو ایکس[1] (XRD)

آزمون پراش اشعه X با استفاده از دستگاه Siemens D5000 ساخت کشور آلمان انجام شد. ژنراتور تولید اشعه X در 40KV و mA 40 تنظیم شد و نمونه‌ها در معرض پرتو X با طول موج nm 0/15406 قرار گرفتند. تشعشعات بازتابشی از نمونه، در دمای محیط و در محدوده $2\theta=1\text{-}40^\circ$ برای نمونه‌های حاوی نانورس و $2\theta=1\text{-}70^\circ$ برای نمونه‌های حاوی TiO_2 جمع‌آوری و نمودار مربوط به شدت بازتابش آنها رسم گردید. اندازهٔ گام‌ها $0/020^\circ$ و سرعت انجام آزمون، $1^\circ/min$ بود. پس از رسم منحنی‌ها و تشخیص پیک پراش، برای تعیین فاصله بین لایه‌ها از قانون براگ[2] استفاده شد:

$$2d\sin\theta = \lambda \qquad (1)$$

d: فاصله بین لایه‌های کریستالی (nm).

θ: از روی 2θ محاسبه می‌شود. 2θ نقطه‌ای روی منحنی است که پیک پراش در آن نقطه مشاهده می‌شود.

λ: طول موجی است که دستگاه در آن طول‌موج کار می‌کند (0/15406nm).

از رابطهٔ شرر[3] برای محاسبهٔ متوسط اندازهٔ دانه‌ها با استفاده از پهنای پیک پراش در نصف ارتفاع استفاده می‌شود:

$$D = k\lambda / \beta\cos\theta \qquad (2)$$

D: اندازهٔ بلورها برحسب nm.

k: ضریب شکل متوسط کریستال[4] که در مورد نانوذرات TiO_2 برابر با 0/9 در نظر گرفته می‌شود.

β: پهنای بلندترین پیک در نصف ارتفاع برحسب رادیان

θ: زاویهٔ پراش بلندترین پیک برحسب درجه می‌باشد.

این رابطه زمانی قابل استفاده است که اندازه بلوره‌ها کمتر از µm 0/1 (1000 Å) باشد.

خواص مکانیکی

استحکام کششی نهایی[5](UTS) و کرنش تا نقطه شکست[6](SB) فیلم‌ها با استفاده از دستگاه آزمون مکانیکی Zwich/Roell مدل FR010(آلمان) و مطابق استاندارد ASTM D882-10 (2010) اندازه‌گیری شد. فیلم‌ها به مدت 24 ساعت در رطوبت نسبی 55 درصد و دمای 25 °C واجد شرایط شدند و توسط تیغه مخصوص سه نمونه دمبلی شکل با ابعاد 6 cm× 0/5 بریده شد و در بین دو فک دستگاه قرار گرفتند. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به‌ترتیب 50 mm و 5 mm/min تعیین و داده‌ها توسط کامپیوتر ثبت گردید. برای هر فیلم، میانگین نتایج مقادیر استحکام کششی نهایی و کرنش تا نقطه شکست گزارش شد.

1 X-Ray Diffraction

2 Bragg's law

3 Scherrer equation

4 Shape factor of average crystallite

5 Ultimate tensile strength

6 Strain at break

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

از روش ذکرشده در استاندارد ASTM E96-05 (2005) برای اندازه‌گیری انتقال بخار آب از فیلم‌ها استفاده شد. در درپوش ویال‌های مخصوصی با قطر 2 cm و ارتفاع 4/5 cm، منفذی به قطر 8 mm ایجاد شد که قطعه‌ای از فیلم مورد آزمون در این قسمت قرار می‌گرفت. 3 گرم سولفات کلسیم به‌منظور ایجاد رطوبت نسبی صفر در داخل ویال‌ها ریخته شد. قطعه‌ای از فیلم بریده و پس از واجد شرایط شدن به مدت 24 ساعت در رطوبت نسبی 55 درصد و دمای 25 °C در درپوش ویال قرار داده شد. ویال‌ها توزین شدند و درون ظرف حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم قرار گرفتند. جهت اطمینان از حفظ حالت اشباع، مقداری رسوب سولفات پتاسیم در کف ظرف ایجاد شد. محلول سولفات پتاسیم اشباع در دمای 25°C، رطوبت نسبی 97 درصد ایجاد می‌کند. ظرف درون انکوباتور 25 ±1 °C قرار گرفت و به مدت 4 روز، هر چند ساعت یک‌بار، وزن ویال‌ها اندازه‌گیری شد. از روی افزایش وزن ویال‌ها، مقدار بخارآب انتقال یافته از فیلم‌ها تعیین شد. منحنی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت زمان رسم و پس از محاسبهٔ رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه گردید. از تقسیم شیب خط مربوط به هر ویال به مساحت فیلم، آهنگ انتقال بخار آب[1](WVTR) به دست آمد. نفوذپذیری نسبت به بخار آب از رابطه زیر محاسبه شد:

$$WVP = \frac{WVTR}{P(R_1 - R_2)} . X \qquad (3)$$

X: ضخامت فیلم (m)

P: فشار بخار آب خالص در دمای 25 °C (3169 Pa).

R_1: رطوبت نسبی در دسیکاتور (97 درصد).

R_2: رطوبت نسبی در داخل ویال (صفر درصد).

جذب رطوبت[2]

برای اندازه‌گیری میزان جذب رطوبت فیلم‌ها از روش Kampeerapappun و همکاران (2004) استفاده شد. نمونه‌هایی از فیلم با ابعاد 20×20 mm تهیه شد و در آون 50°C به مدت 24 ساعت قرار گرفتند. پس از توزین اولیه، نمونه‌ها به ظرف حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم دارای RH= 97% و دمای 25-20 °C منتقل شدند. سپس وزن نمونه‌ها در زمان‌های مختلف تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شده و میزان جذب رطوبت از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\% MU = (W_1 - W_0) \times 100 / W_0 \qquad (4)$$

W_0: وزن اولیه نمونه

W_0: وزن نمونه پس از زمان t در RH=%97

این آزمون در مورد هرکدام از نمونه‌ها سه بار تکرار شد.

حلالیت در آب[3]

حلالیت در آب عبارت است از درصد مادهٔ خشک فیلم که پس از 24 ساعت غوطوری در آب مقطر، به حالت محلول در می‌آید (Gontard *et al.*, 1994). نمونه‌های فیلم با ابعاد 40mm ×20 بریده شد و برای رسیدن به وزن خشک اولیه، به‌مدت 24 ساعت در آون دارای دمای 105 °C قرار داده شد. هر قطعه از نمونه در داخل ظروف دربدار حاوی 50ml آب مقطر غوطه‌ور شد. ظروف در حالی‌که به‌صورت مقطعی همزده می‌شدند،به‌مدت 24 ساعت در دمای 23 °C قرار گرفتند. فیلم‌ها از داخل آب خارج و دوباره به مدت 24 ساعت در آون 105 °C قرار گرفتند تا به وزن ثابت برسند. با توزین دوباره نمونه‌ها، وزن خشک نهایی به دست آمد. درصد کل مادهٔ محلول از رابطه زیر محاسبه گردید:

% WS= [(وزن خشک اولیه/(وزن خشک نهایی - وزن خشک اولیه)] × 100 (5)

آبگریزی سطحی

برای تعیین آبگریزی سطحی فیلم‌ها، زاویه تماس قطره آب به روش سیسیل[4] اندازه‌گیری شد. با استفاده از سرنگ همیلتون، 10 µl آب مقطر بر روی سطح نمونه‌ها قرار داده شد. توسط دوربین Canon MV50 دارای زوم 6 برابر، از قطره آب قرارگرفته در سطح فیلم در زمان اولیه (پس از 2 ثانیه) و پس از گذشت 60 ثانیه عکس گرفته شد. برای محاسبه زاویه تماس آب با سطح فیلم‌ها از نرم‌افزار Adobe Acrobat 8 Professional استفاده شد. محاسبه زاویه بین خط مماس بر قطره در نقطه تماس و خط رسم شده در راستای سطح فیلم، زاویه تماس را نشان می‌دهد (ابولقاسمی فخری و همکاران، 1390). این آزمون در مورد هر کدام از فیلم‌ها سه بار تکرار شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

همه آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم‌افزار آماری SPSS 16 در سطح احتمال 5٪ (P<0/05) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام گرفت.

1 Water vapor transmission rate

2 Water Uptake

3 Water Solubility

4 Sessile

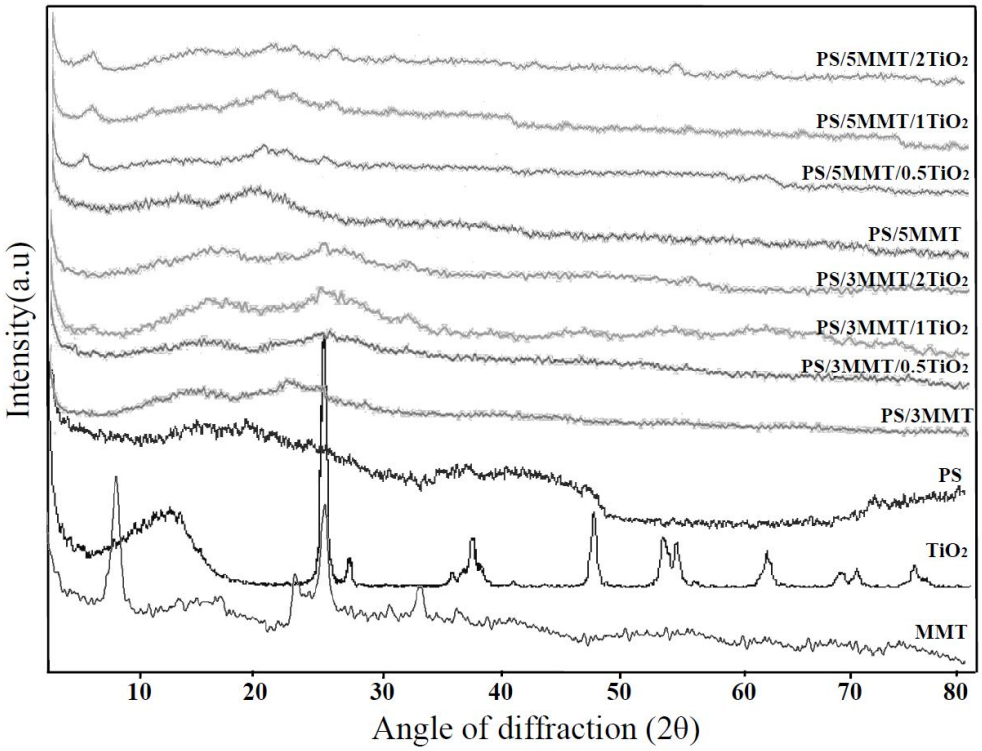
نتایج و بحث

بررسی ریزساختار فیلم‌ها با پراش پرتو ایکس (XRD)

مطالعه نتایج پراش پرتو X، امکان شناخت نوع ساختارهای ورقه‌ای و بین‌لایه‌ای ذرات نانورس، نحوه توزیع صفحات و میزان توده‌ای شدن نانوذرات TiO_2، اندازه بلورها و آنالیز چگونگی شرکت آنها در ساختار ماتریس نانوکامپوزیت‌های پلیمری را فراهم می‌کند. دو حالت متفاوت از اختلاط نانورس و پلیمر در فیلم نانوکامپوزیتی وجود دارد:

1- توزیع به‌صورت بین‌لایه‌ای (Intercalation)، که در این حالت زنجیرهای پلیمر به فضای بین لایه‌های نانورس نفوذ می‌کنند، اما لایه‌های نانورس آرایش طبیعی خود را حفظ کرده و فقط فاصله این صفحات از هم افزایش می‌یابد.

2- توزیع به‌صورت ورقه‌ای (Exfoliation)، که در این حالت لایه‌های نانورس کاملاً از هم جدا شده و در جهات مختلف در ماتریس پلیمری پراکنده می‌شوند. مطالعات نشان داده است که خصوصیات فیزیکوشیمیایی و کاربردی نانوکامپوزیت‌ها، بستگی زیادی به‌نحوه توزیع نانورس در ماتریس پلیمر دارد. ساختار ورقه‌ای بهترین نوع اختلاط محسوب می‌شود، زیرا در این حالت، همگنی و یکنواختی سیستم بالا بوده و احتمال توده‌ای شدن نانولایه‌ها کاهش می‌یابد. همچنین، به‌دلیل افزایش احتمال ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین صفحات نانورس و زنجیرهای بیوپلیمر ویژگی مکانیکی فیلم‌ها تقویت می‌گردد. در ساختار ورقه‌ای تعداد لایه‌هایی که به‌عنوان مانع در مقابل نفوذ مولکول‌های گازی و بخار آب عمل می‌نمایند، افزایش یافته و به این ترتیب خصوصیت بازدارندگی فیلم‌ها نیز بهبود می‌یابد. منحنی پراش پرتو X پودر TiO_2 و MMT، فیلم نشاسته نرم‌شده و فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیت دارای نانورس و سطوح مختلف TiO_2 در شکل 1 آورده شده است.



شکل 1- الگوی پراش پرتو ایکس TiO_2، MMT، PS و نشاسته حاوی سطوح مختلف MMT و TiO_2.

فیلم‌های نانوکامپوزیتی PS-3MMT حاوی سطوح مختلف TiO_2، دارای الگوی پراش پرتو X یکسان و مشابه با فیلم‌های PS و PS-3MMT و منحنی‌ها فاقد هرگونه پیک مشخصه مربوط به MMT می‌باشند. نانوذرات TiO_2 نیز بدون ایجاد توده در ماتریس زیست‌کامپوزیت نشاسته‌ای پخش شدند و با افزایش غلظت آنها، شدت پیک‌های مربوطه دچار تغییرات محسوسی نگردید. تخمین اندازه نانوذرات با استفاده از رابطه شرر نشان داد که با افزایش غلظت TiO_2، اندازه نانوذرات بزرگ‌تر شده است و از nm 80 در

نانوکامپوزیت $PS\text{-}3MMT\text{-}0.5TiO_2$ به‌ترتیب به 118 و 170 nm در $PS\text{-}3MMT\text{-}1TiO_2$ و $PS\text{-}3MMT\text{-}2TiO_2$ افزایش یافته است؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که صفحات نانورس به‌طور کامل و با ایجاد ساختار ورقه‌ای در ماتریس پلیمری توزیع و زنجیرهای نشاسته نرم‌شده، نانوذرات TiO_2 و لایه‌های نانورس به‌خوبی در هم پخش‌شده‌اند.

افزودن نانوذره TiO_2 به فیلم PS-5MMT موجب ظهور پیک در ناحیه $2\theta = 4\text{-}6°$ شده است. فیلم سه‌جزئی حاوی 0/5 درصد TiO_2 دارای پیک پراش در زاویه $2\theta = 4/8°$ و فضای گالری 1/81 nm بود. با افزایش سطح نانوذرات TiO_2 به 1 و 2 درصد، علاوه بر افزایش شدت پیک مشخصهٔ مربوط به نانورس، زاویه پراش پرتو X و فضای گالری نیز تغییر نموده و به‌ترتیب به $2\theta = 5/5°$ افزایش و 1/60 nm کاهش یافته است. در این حالت، نفوذ زنجیرهای نشاسته به داخل فضای گالری نانورس به‌طور کامل صورت نگرفته است، بنابراین می‌توان احتمال داد که غلظت زیاد نانورس و حضور نانوذرات TiO_2، موجب تغییر مورفولوژی پخش MMT از ورقه‌ای کامل در فیلم دوجزئی PS-5MMT به ورقه‌ای- بین‌لایه‌ای در فیلم‌های سه‌جزئی $PS\text{-}MMT\text{-}TiO_2$ شده است. بروز این پدیده به فروریزش[1] صفحات نانورس روی‌هم و انبوهه‌شدن جزئی[2] آنها در حضور TiO_2 نسبت داده می‌شود. دلیل این امر، تأثیر نیروی تراکمی[3] توده‌های نانوذرات TiO_2 بر لایه‌های نانورس می‌باشد. دلیل قابل ذکر دیگر، وجود برهمکنش‌های احتمالی بین نانورس و نانوذرات TiO_2 می‌باشد که در نهایت موجب توده و انبوهه‌شدن صفحات MMT شده است. نتایج مشابهی توسط Yin و همکاران (2009) در خصوص تولید نانوکامپوزیت PET حاوی مخلوط MMT و $SiO_2\text{-}TiO_2$ مشاهده گردید. Qu و همکاران (2009) نیز گزارش مشابهی درباره استفاده هم‌زمان نانورس و کربن سیاه در پلیمر لاستیک طبیعی ارائه نموده‌اند. مطابق شکل 1، نانوذرات فلزی TiO_2 به‌خوبی در ماتریس نانوپلیمری پخش‌شده‌اند. با افزایش غلظت TiO_2، تمایل نانوذرات به تجمع و توده‌ای شدن افزایش می‌یابد. اندازه ذرات TiO_2 در فیلم‌های PS-5MMT حاوی 0/5 و درصد 1 TiO_2 به‌ترتیب 133 و 290 nm می‌باشد. با افزودن 2 درصد TiO_2 به فیلم PS-5MMT میزان انبوهه شدن به‌طور شدیدی بیشتر شده و اندازه ذرات TiO_2 به 580nm رسیده است. نتایج مشابهی توسط Deka و Maji (2011) در مورد تأثیر افزودن هم‌زمان نانورس و نانوذرات TiO_2 بر منحنی‌های پراش پرتو X زیست‌نانوکامپوزیت پلیمری چوب گزارش شده است.

1 Collapse

2 Partially aggregation

3 Compressive force effect

ویژگی‌های مکانیکی

خصوصیات مکانیکی، یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های مواد پلیمری مورد استفاده برای بسته‌بندی محصولات غذایی می‌باشد. مهم‌ترین پارامترهای مورد نظر در بررسی نتایج آزمون ویژگی‌های مکانیکی، مقاومت و انعطاف‌پذیری فیلم‌های بسته‌بندی هستند. مقاومت مکانیکی بالا باعث می‌شود که فیلم در اثر وارد شدن تنش‌های مکانیکی زمان حمل ونقل و انبارداری، دچار صدماتی مانند پارگی و سوراخ‌شدگی نگردد و ضمن ممانعت از نشت محتویات خود به خارج از بسته، بازدارندگی خود را نسبت به گازها، ترکیبات فرّار و بخار آب حفظ نماید. انعطاف‌پذیری بالا باعث می‌شود که فیلم بدون ایجاد ترک و شکستگی با شکل ماده غذایی تطابق داشته باشد و به‌راحتی به‌عنوان پوشش مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج حاصل از انجام آزمون کشش بر روی فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی نشاسته حاوی سطوح مختلف TMM و TiO_2 در شکل 2 ارائه شده است. افزودن مقادیر 3 و 5 درصد نانورس به‌همراه سطوح مختلف TiO_2، موجب افزایش مقاومت مکانیکی فیلم‌ها گردید. برای فیلم‌های $PS\text{-}3MMT\text{-}TiO_2$ با افزایش مقدار TiO_2 از صفر تا 1 درصد، UTS به‌طور معنی‌داری از 4/86 تا MPa 5/76 افزایش و در نمونه حاوی 2 درصد TiO_2، میزان استحکام کششی به MPa 5/47 کاهش یافت. میزان کرنش تا نقطه شکست در فیلم‌های $PS\text{-}3MMT\text{-}TiO_2$، با افزودن 0/5 و 1 درصد TiO_2 از 78/23 به‌ترتیب به 76/19 و 72/39 درصد کاهش یافته است. این کاهش با افزودن 0/5 درصد TiO_2 به فیلم شاهد (حاوی فقط 3 درصد نانورس) معنی‌دار نبود، ولی تفاوت بین SB فیلم حاوی 1 درصد TiO_2 و فیلم شاهد معنی‌دار بود. میزان SB فیلم حاوی 0/5 و 1 درصد TiO_2 نیز اختلاف معنی‌داری با هم داشتند. امّا با افزایش 2 درصد TiO_2 به فرمولاسیون تولید فیلم، با تفاوت معنی‌داری به 59/66 درصد کاهش یافت. نتایج مشابهی در مورد تأثیر مخلوط نانورس و نانوذرات TiO_2 بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های نشاسته‌ای منتشر نشده است.

ایجاد پیوندهای قوی بین زنجیرهای نشاسته با نانوذرات TiO_2 و لایه‌های پخش‌شده نانورس موجب افزایش استحکام مکانیکی فیلم‌ها می‌گردد. در طول فرآیند تولید محلول تشکیل‌دهنده فیلم و بخصوص در زمان خشک‌کردن فیلم، بین گروه‌های هیدروکسیل نشاسته و گروه‌های هیدروکسیل MMT پیوندهای هیدروژنی تشکیل و بین زنجیرهای نشاسته و نانوذرات TiO_2 نیز جاذبه الکترواستاتیکی، پیوند هیدروژنی یا پیوند O-Ti-O ایجاد می‌شود. وجود این پیوندها باعث افزایش مقاومت مکانیکی فیلم در مقابل پاره شدن می‌گردد. همچنین، در فیلم $PS\text{-}MMT\text{-}TiO_2$ نانوذرات نیز با یکدیگر برهمکنش‌هایی از نوع جاذبه الکترواستاتیکی و هیدروژنی برقرار می‌نمایند. نتایج

طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه، وجود این پیوندها را در فیلم‌های زیستی نشاسته‌ای حاوی نانورس و TiO_2 نشان داده است (اولیایی و همکاران، 1395). این برهمکنش‌ها بر نحوهٔ پراکنش نانوذرات TiO_2 و مورفولوژی پخش لایه‌های MMT تأثیر می‌گذارد و با ایجاد اثر هم‌افزایی[4] ضمن ایجاد توزیع یکنواخت‌تر نانوذرات TiO_2 و ممانعت از کلوخه و انبوهه شدن آنها در ماتریس پلیمری باعث پخش بهتر صفحات نانورس و به دنبال آن بهبود خواص مکانیکی فیلم‌ها شده‌اند. بروز اثر هم‌افزایی ناشی از تشکیل زیرمجموعه‌های $MMT-TiO_2$ و ایجاد یک شبکه بهم‌فشرده حاوی لایه‌های نانورس دوبعدی و نانوذرات تیتانیوم‌دی‌اکسید سه‌بعدی در ماتریس زیست‌نانوکامپوزیت است. با افزایش میزان نانوذرات TiO_2 به 2 درصد در ساختار فیلم $PS-3MMT-TiO_2$، به‌دلیل ایجاد انبوهه‌های تیتانیوم‌دی‌اکسید و به‌وجود آمدن نقاط ضعیف در شبکه میکروساختاری بیوپلیمر، از میزان مقاومت به کشش فیلم کاسته شده است.

نتایج آزمون خواص مکانیکی نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات TiO_2 در فیلم $PS-3MMT-TiO_2$، میزان کشش‌پذیری فیلم کاهش می‌یابد. این امر نشان‌دهنده اثر ضد نرم‌کنندگی نانورس و نانوذرات TiO_2 وارد شده به ماتریس پلیمری و کاهش میزان نرم‌سازی و انعطاف‌پذیری فیلم نشاسته توسط گلیسرول می‌باشد. در فیلم‌های $PS-5MMT-TiO_2$، با افزایش محتویTiO_2 از صفر تا 1 درصد، UTS به‌طور معنی‌داری تغییر ننمود، اما در نمونه حاوی 2 درصد TiO_2، میزان استحکام کششی به‌صورت معنی‌دار به MPa 3/83 کاهش یافت. کرنش تا نقطهٔ شکست این فیلم‌ها، با افزودن 0/5 و 1 و 2 درصد TiO_2 به‌طور معنی‌داری از 71/93 به‌ترتیب به 66/18، 61/72 و 53/30 درصد کاهش پیدا کرده است. مقایسه نتایج آزمون مکانیکی فیلم‌های $PS-MMT-TiO_2$، حاوی 3 و 5 درصد نانورس و سطوح مختلف TiO_2، نشان داد که با افزایش درصد نانورس مورفولوژی پخش نانوذرات دچار تغییر شده است و خواص مکانیکی فیلم‌های سه‌جزئی دارای 5 درصد نانورس ضعیف‌تر از فیلم‌های دارای 3 درصد نانورس بوده است. به عبارتی می‌توان گفت که اثر هم‌افزایی بین این نانوذرات در محتوی نانورس کمتر از 5 درصد بروز می‌کند. نتایج آزمون اندازه‌گیری دمای انتقال شیشه‌ای، نتایج به‌دست آمده درباره اثر نانوذرات رس و TiO_2 بر خواص مکانیکی را تأیید نموده است (اولیایی و همکاران، 1395).

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

به‌منظور ممانعت از تبادل گاز و رطوبت بین محیط و ماده غذایی بسته‌بندی شده، پلیمر مورد استفاده برای بسته‌بندی باید تا حد امکان کمترین نفوذپذیری نسبت به گازها و بخار آب را داشته باشد. یکی از مهم‌ترین الزامات در استفاده از زیست‌پلیمرهای طبیعی، به‌عنوان ماده بسته‌بندی مواد غذایی، کاهش نفوذپذیری نسبت به بخارآب به پایین‌ترین مقدار مورد نیاز می‌باشد. انتقال بخارآب از بیوفیلم‌های آب‌دوست مانند نشاسته، به آهنگ جذب (حلالیت) مولکول‌های بخارآب به ماتریس و آهنگ انتشار آن‌ها در ماتریس بیوپلیمر بستگی دارد (Müller *et al.*, 2011). آهنگ جذب به‌سرعت تشکیل حفرات خالی ایجاد شده توسط جنبش‌های تصادفی (براونی) یا گرمایی زنجیرهای پلیمری وابسته است و آهنگ انتشار به انتقال مولکولی، مولکول‌های گاز به حفره خالی مجاور بستگی دارد، بنابراین، نفوذپذیری فیلم پلیمری به اندازه حفرات خالی، میزان جنبش زنجیرهای پلیمر و تعداد و شدت برهمکنش‌های بین زنجیرهای پلیمر با هم و با مولکول‌های گاز بستگی دارد. تمامی این پارامترها به‌ویژگی‌های شیمیایی ذاتی پلیمر و عوامل محیطی مانند دما و فشار وابسته است (غلامی و همکاران، 1392).

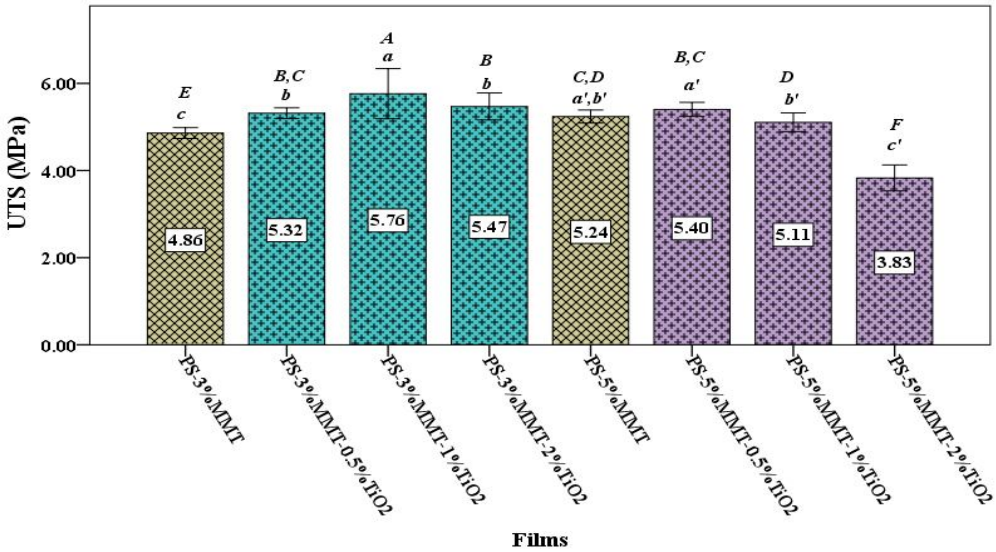
شکل 3 تأثیر افزودن هم‌زمان نانورس و نانوذرات TiO_2 بر میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های نشاسته را نشان می‌دهد. با افزایش هم‌زمان نانوذرات MMT و TiO_2، میزان WVP فیلم‌ها به شدت کاهش یافت. WVP فیلم‌های نشاسته‌ای دارای 3 درصد نانورس و 0/5، 1 و 2 درصد نانوذرات TiO_2 به ترتیب $5/22\times10^{-7}$، $3/79\times10^{-7}$ و $3/04\times10^{-7}$ g/m.h.Pa بود که با WVP فیلم نشاسته خالص ($9/89\times10^{-7}$ g/m.h.Pa) و فیلم نشاسته حاوی 2 درصد TiO_2 ($6/48\times10^{-7}$ g/m.h.Pa) تفاوت معنی‌داری داشت.

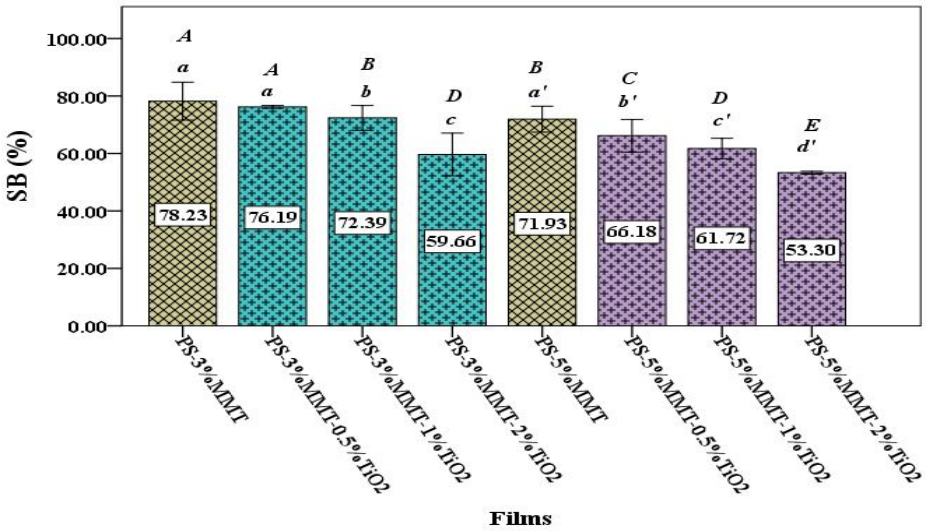
بیوفیلم‌های نشاسته‌ای حاوی 5 درصد نانورس و سطوح 0/5، 1 و 2 درصد TiO_2 به ترتیب دارای نفوذپذیری نسبت به بخار آب $4/62\times10^{-7}$، $4/20\times10^{-7}$ و $3/97\times10^{-7}$ g/m.h.Pa بودند که با WVP فیلم نشاسته خالص و فیلم حاوی 2 درصد TiO_2 به‌تنهایی دارای تفاوت معنی‌داری بود و با WVP زیست‌نانوکامپوزیت حاوی 5 درصد نانورس نیز تفاوت معنی‌داری داشتند. صفحات از هم جدا شده نانورس و نانوذرات TiO_2، ضمن پخش شدن در ماتریس پلیمر با ایجاد ممانعت فضایی و طولانی نمودن مسیرهای عبور گازها، باعث کاهش ضریب انتشار جزء منتشرشونده (بخار آب) خواهند شد. همچنین برهمکنش نانوذرات با زنجیرهای نشاسته موجب کاهش حفرات و فضاهای آزاد موجود در ماتریس و کاهش آب‌دوستی بیوپلیمر و در نتیجه کاهش آهنگ انتقال مولکول‌های بخار آب می‌گردد. نکته قابل توجه در استفاده از این دو نانوذره به‌عنوان پرکننده در تولید نانوکامپوزیت نشاسته‌ای، مشاهده اثر تشدیدکنندگی آنها در بهبود ویژگی بازدارندگی نسبت به بخار آب فیلم حاصل می‌باشد، که احتمالاً به‌دلیل برهمکنش بین صفحات نانورس و TiO_2 و بهبود پخش نانوذرات TiO_2 در ماتریس پلیمر است. همچنین، با توجه به کوچک‌تر بودن نانوذرات TiO_2 نسبت به صفحات نانورس، امکان قرار گرفتن آنها بین لایه‌های نانورس پخش‌شده در پلیمر وجود داشته و همچنین

4 Synergism Effect

موجب انسداد میکروکانال‌ها و نانوکانال‌های احتمالی باقیمانده پس از ورقه‌ای شدن صفحات نانورس می‌گردد.

دیگر دلیل وجود اثر هم‌افزایی نانورس و نانوذرات TiO_2 در کاهش WVP فیلم‌های نشاسته‌ای را می‌توان این‌گونه بیان نمود که مولکول‌های نانورس به‌دلیل داشتن گروه‌های OH دارای خاصیت آب‌دوستی می‌باشند، اما نانوذرات TiO_2 دارای خاصیت آب‌دوستی کمتری هستند، بنابراین با افزودن نانوذرات TiO_2 به محلول تشکیل‌دهنده فیلم نشاسته حاوی لایه‌های ورقه‌ای شده نانورس و قرارگرفتن بخشی از این دو نانوذره در کنار هم و ایجاد برهمکنش هیدروژنی و الکترواستاتیک بین آنها، نانوذرات TiO_2 به‌عنوان یک پوشش آب‌گریز برای صفحات نانورس عمل نموده و با افزایش خاصیت هیدروفوبی لایه‌های نانورس، موجب تشدید افزایش اثر استفاده از مخلوط نانوذرات در بهبود ویژگی‌های بازدارندگی فیلم می‌شوند. در پژوهشی که توسط Tang و همکاران (2009) درباره بررسی تأثیر هم‌زمان نانورس و نانولوله کربنی بر خصوصیات کاربردی بیوفیلم کیتوزان انجام شد، مشاهده گردید که به‌کارگیری توأم دو نانوذره که دارای ابعاد و ساختار فضایی متفاوتی هستند، باعث بروز اثر تشدیدکنندگی نانوذرات در کاهش WVP فیلم می‌گردد. همچنین نتایج مشابهی توسط Bendahou و همکاران (2011) دربارهٔ ایجاد اثر هم‌افزایی نانورس و نانوکریستال‌های سلولز در بهبود ویژگی بازدارندگی زیست‌نانوکامپوزیت لاستیک طبیعی حاوی این دو نانوذره ارائه شده است.

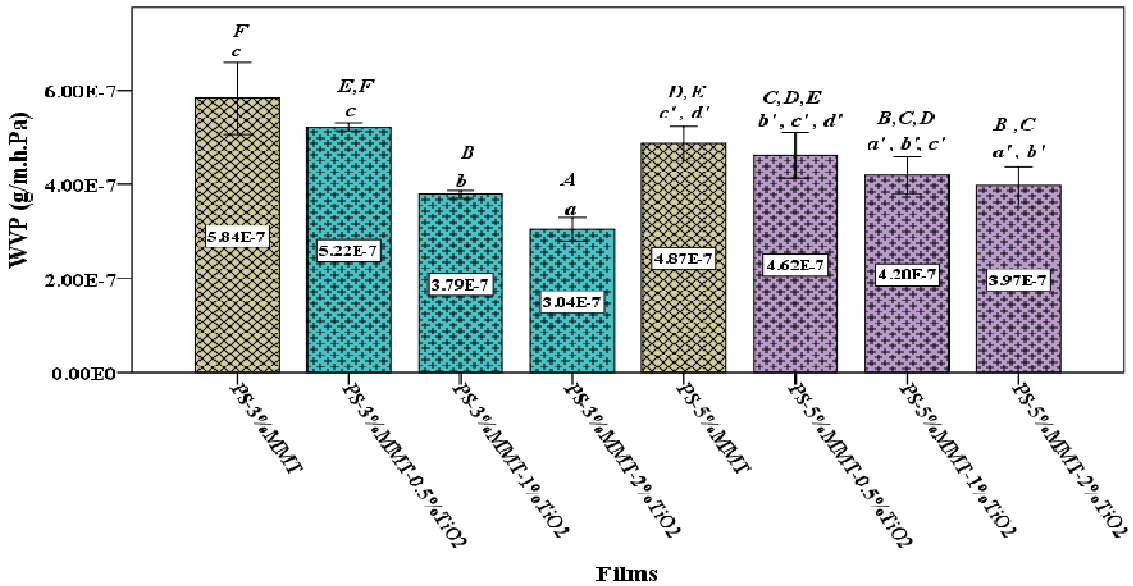




شکل 2- اثر مخلوط MMT و TiO_2 بر استحکام کششی نهایی (UTS) و کرنش تا نقطهٔ شکست (SB) فیلم‌ها.

* حروف غیریکسان کوچک و بزرگ در هر ستون به ترتیب نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌های حاوی سطح ثابت نانورس و سطوح مختلف TiO_2 و اختلاف معنی‌دار

بین تمام نمونه‌ها است.



شکل 3- تأثیر مقادیر مختلف نانوذرات MMT و TiO_2 و مخلوط آنها بر میزان WVP فیلم‌های نشاسته نرم‌شده.

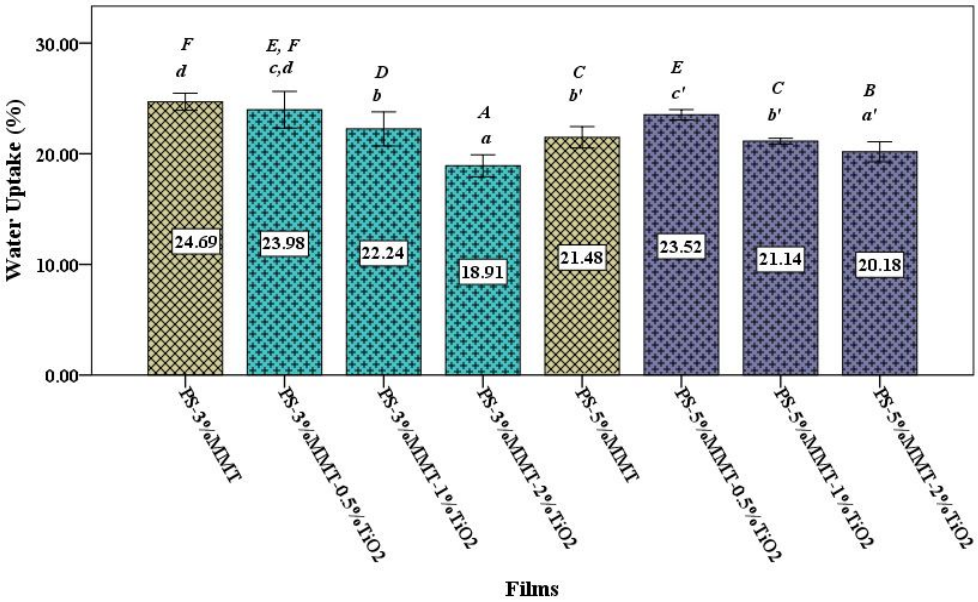
* حروف غیریکسان کوچک و بزرگ در هر ستون به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌های حاوی سطح ثابت نانورس و سطوح مختلف TiO_2 و اختلاف معنی‌دار بین تمام نمونه‌ها است.

جذب رطوبت

یکی از فاکتورهای مهم در تشخیص کاربرد یک پلیمر، میزان جذب رطوبت آن می‌باشد. ازآنجایی‌که مواد غذایی معمولاً دارای رطوبت بالایی می‌باشند و یا در محیط‌های دارای رطوبت نسبی بالاتر از ماده غذایی نگهداری می‌شوند، توجه به میزان جذب رطوبت ماده پلیمری مورد استفاده در بسته‌بندی امری مهم به‌شمار می‌آید. اگر ماده بسته‌بندی به رطوبت حساسیت زیادی داشته باشد، با قرار گرفتن در محیط دارای رطوبت نسبی بالا، علاوه بر تغییر خواص کاربردی ماده بسته‌بندی، موجب افت کیفیت ماده غذایی و کاهش زمان ماندگاری آن خواهد شد. میزان جذب رطوبت فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیت نشاسته حاوی مقادیر مختلف نانورس و نانوذرات TiO_2 در شکل 4 نشان داده شده است. برقراری پیوند هیدروژنی بین نشاسته و نانورس، سبب کاهش تعداد گروه‌های OH آزاد نشاسته شده و ساختاری فشرده و مستحکم را ایجاد نموده که نفوذ و جذب مولکول‌های آب را به درون این ساختار محدود می‌سازد. مهم‌ترین عوامل مؤثر در جذب رطوبت توسط یک پلیمر به‌ترتیب، درجه آب‌دوستی و درصد وجود فضاهای خالی بین زنجیرهای آن می‌باشد. حضور نانورس و برقراری پیوند هیدروژنی با زنجیرهای نشاسته، موجب کاهش تعداد گروه‌های OH آزاد نشاسته می‌شود، اما به‌دلیل اینکه خود مولکول‌های نانورس نیز دارای عوامل OH می‌باشند، بنابراین تأثیر بسزایی بر کاهش درجه آب‌دوستی نشاسته ندارند. قرار گرفتن لایه‌های نانورس در بین زنجیرهای نشاسته موجب کاهش فضاهای آزاد بین زنجیرهای بیوپلیمر شده که در این حالت فضایی برای نفوذ و جذب مولکول‌های بخار آب باقی نمی‌ماند، بنابراین تأثیر نانورس در کاهش میزان جذب رطوبت فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیت، فراتر از ترکیب شیمیایی، به شکل ساختمانی و نحوه قرارگیری لایه‌های آن در بین زنجیرهای بیوپلیمر بستگی دارد. Huang و همکاران (2004) نشان دادند که با افزایش محتوی MMT، از 30-0 درصد میزان جذب رطوبت فیلم نشاسته از 23-18 درصد کاهش می‌یابد.

با افزایش هم‌زمان نانوذرات MMT و TiO_2، کاهش شدید در میزان جذب رطوبت فیلم‌های نانوکامپوزیتی مشاهده گردید. در فیلم‌های حاوی 3 درصد نانورس، با افزودن 0/5 و 1 درصد TiO_2، به‌ترتیب 2/88 و 9/92 درصد کاهش در میزان جذب بخارآب مشاهده شد. فیلم حاوی 3 درصد نانورس و 2 درصد نانوذره TiO_2، بیشترین کاهش در میزان جذب رطوبت یعنی 23/41 درصد را نشان داد. برای فیلم‌های حاوی 5 درصد نانورس، کاهش در میزان جذب رطوبت با افزودن 1 و 2 درصد TiO_2، به‌ترتیب 1/58 و 6/05 درصد بود اما با افزودن 0/5 درصد TiO_2 میزان جذب رطوبت 9/5 درصد افزایش نشان داد. نانوذرات TiO_2 و گروه‌های هیدروکسیل نانورس پخش‌شده در ماتریس بیوپلیمری با گروه‌های هیدروکسیل نشاسته پیوند ایجاد

می‌کنند و ضمن کاهش تعداد محل‌های فعال برای جذب مولکول‌های آب، با ایجاد ممانعت فضایی و کاهش حفرات آزاد بین زنجیرها موجب کاهش جذب رطوبت زیست‌نانوکامپوزیت تولید شده می‌گردد. همچنین، همان‌گونه که قبلاً توضیح داده شد، نانوذرات TiO_2، از طریق پیوندهای هیدروژنی و الکترواستاتیک یا فرآیند تعویض یونی کاتیونی با لایه‌های نانورس اتصال ایجاد نموده و همین امر به پخش یکنواخت نانوذرات و ممانعت از انبوهه‌شدن TiO_2 در نانوکامپوزیت و القای خاصیت آبگریزی نسبی بیشتر به فیلم حاصل کمک می‌نماید.



شکل 4- تأثیر مقادیر مختلف مخلوط نانوذرات MMT و TiO_2 بر جذب رطوبت فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی نشاسته.

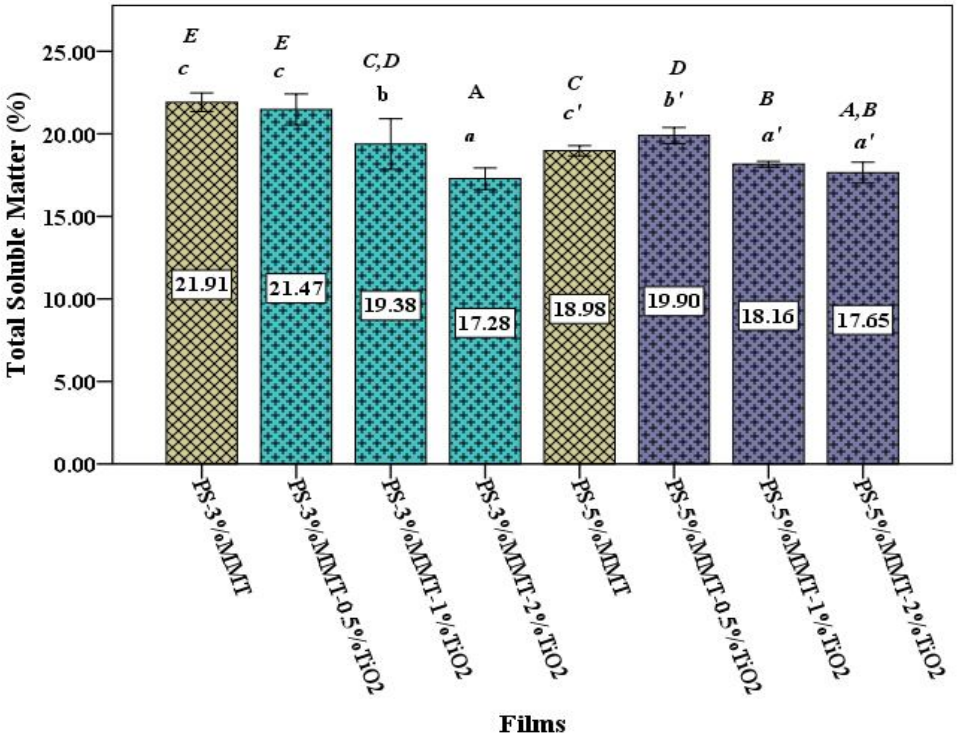
* حروف غیریکسان کوچک و بزرگ در هر ستون به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌های حاوی سطح ثابت نانورس و سطوح مختلف TiO_2 و اختلاف معنی‌دار بین تمام نمونه‌ها است.

حلالیت در آب

یکی از فاکتورهای کیفی مهم در خصوص مواد مورد استفاده در بسته‌بندی محصولات غذایی، حلالیت در آب می‌باشد. پلیمر یا بیوپلیمری که برای بسته‌بندی مواد غذایی به‌کار می‌رود باید دارای کمترین حساسیت نسبت به رطوبت باشد. در غیر این صورت، در زمان انبارداری کارایی خود را از دست داده و نمی‌تواند از بروز انواع فسادهای میکروبی و شیمیایی در ماده غذایی درون خود، جلوگیری به‌عمل آورد. همانطور که قبلاً اشاره شد، حساسیت نسبت به رطوبت و حلالیت بالاتر نسبت به پلیمرهای سنتزی، یکی از معایب اصلی بیوپلیمرها به‌حساب می‌آید. به همین دلیل، به‌منظور جایگزینی پلیمرهای سنتزی با مواد بسته‌بندی تولید شده از بیوپلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر، بایستی این عیب در آنها تا حد قابل قبولی رفع شود.

حلالیت فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیت نشاسته حاوی مقادیر مختلف نانورس و نانوذرات TiO_2 در شکل 5 آورده شده است. مشاهده گردید که با افزایش هم‌زمان نانوذرات MMT و TiO_2 در فیلم‌ها، حلالیت در آب فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی به‌شدت کاهش یافت. در فیلم‌های حاوی 3 درصد نانورس، میزان درصد کل ماده محلول 21/91 درصد بود که با افزودن 0/5 درصد تیتانیوم‌دی‌اکسید به 21/47 درصد کاهش یافت. با افزایش 1 و 2 درصد TiO_2 به ساختار فیلم زیست‌نانوکامپوزیت، حلالیت به‌ترتیب به 19/38 و 17/28 درصد کاهش یافت. در فیلم‌های حاوی 5 درصد نانورس، میزان درصد کل ماده محلول 18/98 درصد بود که با افزودن 0/5 درصد تیتانیوم‌دی‌اکسید به 19/90 درصد افزایش یافت، اما با افزایش 1 و 2 درصد TiO_2، به ساختار فیلم زیست‌نانوکامپوزیت، حلالیت به‌ترتیب به 18/16 و 17/65 درصد کاهش یافت. گروه‌های هیدروکسیل نشاسته با گروه‌های هیدروکسیل مولکول‌های MMT، پیوند هیدروژنی برقرار می‌نماید و مولکول‌های TiO_2 نیز با زنجیرهای نشاسته و همچنین با مولکول‌های MMT، پیوند هیدروژنی و برهمکنش الکترواستاتیکی برقرار نموده بدین ترتیب باعث افزایش برهمکنش بین زنجیرها

می‌شود. از طرف دیگر مولکول‌های TiO_2، در محیط آبی دارای بار مثبت (Ti^{4+}) می‌باشند که موجب نفوذ نانوذرات TiO_2 به‌درون لایه‌های مونت‌موریلونیت (کلوزیت Na^+) از طریق فرآیند تعویض یونی کاتیونی می‌گردد، بنابراین، حضور نانورس به پخش یکنواخت نانوذرات TiO_2 کمک می‌نماید و اثر هم‌افزایی آنها سبب افزایش هرچه بیشتر برهمکنش‌ها و پیوستگی ماتریس بیوپلیمری شده و درنتیجه حلالیت ماکرومولکول نشاسته در آب، کاهش می‌یابد. نتایج مشابهی در مورد تأثیر هم‌زمان MMT و TiO_2 بر روی ویژگی حلالیت در آب فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیت نشاسته گزارش نشده است. Li و همکاران (2011) مشاهده نمودند که با افزودن 1 درصد TiO_2 به فیلم پروتئین‌های آب پنیر میزان حلالیت در آب به‌طور معنی‌داری از 17/14 درصد در فیلم خالص به 15/37 درصد در فیلم نانوکامپوزیتی کاهش می‌یابد، اما گزارش ارائه شده توسط Rhim و همکاران (2006) نشان داد که حضور نانوذرات نقره در ساختار بیوفیلم‌های کیتوزان، تأثیر معنی‌داری بر ویژگی حلالیت در آب آن نداشته است.



شکل 5- تأثیر مقادیر مختلف مخلوط MMT و TiO_2 بر حلالیت در آب فیلم‌های نانوبیوکامپویتی نشاسته.

* حروف غیریکسان کوچک و بزرگ در هر ستون به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌های حاوی سطح ثابت نانورس و سطوح مختلف TiO_2 و اختلاف معنی‌دار بین تمام نمونه‌ها است.

آبگریزی سطحی

یکی از آزمون‌های رایج در تعیین میزان قابلیت مرطوب‌شوندگی سطحی مواد بسته‌بندی، آزمون زاویه تماس قطره آب است. این آزمون معمولاً برای تخمین میزان مقاومت فیلم در برابر نفوذ آب مایع بکار می‌رود و بیانگر درجه آب‌دوستی یا آبگریزی سطح فیلم می‌باشد (Liu *et al.*, 2008). همچنین، نتایج این آزمون، میزان تحرک مولکولی در سطوح مشترک فیلم-آب-هوا را نشان می‌دهد. بررسی نتایج آزمون زاویه تماس زیست‌نانوکامپوزیت‌های بیوپلیمری با میزان آب‌دوستی بالا جایگزین بسته‌بندی‌های پلاستیکی رایج، از اهمیت بالایی برخوردار است و یک روش مناسب برای تعیین میزان حساسیت آنها به رطوبت به‌شمار می‌آید (Rhim *et al.*, 2011).

جدول 1 تأثیر افزودن هم‌زمان نانورس و نانوذرات TiO_2 بر میزان زاویه تماس اولیه و ثانویه قطرهٔ آب با سطح فیلم‌های نشاسته را نشان می‌دهد. مشاهده شد که با افزایش مقدار نانورس در ترکیب فیلم زاویه تماس اولیه و ثانویه کاهش و با افزایش میزان حضور نانوذرات TiO_2 زاویه‌های تماس افزایش یافته است. نتایج مشابهی توسط Cyras و

همکاران (2008) در مورد کاهش زاویه تماس آب و افزایش ویژگی مرطوب‌شوندگی سطحی فیلم‌های زیست‌نانوکامپوزیتی نشاسته در اثر افزایش میزان نانورس گزارش شده است. این رفتار را می‌توان به‌وجود گروه‌های هیدروکسیل (OH) در مولکول‌های نانورس نسبت داد. سدیم مونت‌موریلونیت به‌دلیل داشتن گروه‌های OH، ماده‌ای هیدروفیل بشمار می‌آید. تمایل لایه‌های سیلیکاتی دارای گروه‌های هیدروکسیل به برقراری پیوند با مولکول‌های آب موجب پخش سریع‌تر قطره آب و کاهش زاویه تماس آن با سطح فیلم‌های حاوی نانورس می‌گردد. با در کنار هم قرار دادن نتایج آزمون‌های جذب رطوبت، نفوذپذیری نسبت به بخارآب و آزمون زاویه تماس آب فیلم‌های نشاسته‌ای حاوی MMT به‌تنهایی مشاهده می‌شود که نتیجه آزمون زاویه تماس با نتایج دو آزمون دیگر تناقض دارد. نانورس درعین‌حال که ماده‌ای هیدروفیل است و باعث افزایش آب‌دوستی سطحی و یا به عبارتی ویژگی مرطوب‌شوندگی ایستای فیلم می‌شود، قادر است بازدارندگی فیلم در برابر نفوذ و عبور رطوبت را افزایش و خاصیت مرطوب‌شوندگی دینامیک را کاهش دهد، بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که مابین ویژگی‌های مرطوب‌شوندگی استاتیک و دینامیک فیلم، لزوماً همبستگی مثبت وجود ندارد. نتیجه‌گیری دیگر اینکه، کاهش مقادیر زاویه تماس و افزایش آب‌دوستی سطحی فیلم در اثر افزایش غلظت نانورس در فیلم، به ماهیت شیمیایی نانورس بستگی دارد، اما کاهش میزان جذب رطوبت و WVP، علاوه بر ماهیت شیمیایی به ساختار مولکولی و شکل فضایی نانورس و همچنین نحوه توزیع آنها در ماتریس بیوپلیمری وابسته است. همچنین، وجود تناقض بین نتایج آزمون‌های میزان جذب رطوبت و WVP با نتایج آزمون زاویه تماس آب، صحت تئوری ایجاد مسیرهای زیگزاگی و پرپیچ‌وخم در کاهش نفوذپذیری نسبت به بخارآب را به اثبات می‌رساند.

جدول 1- زاویه تماس اولیه و ثانویه قطره آب فیلم‌های نشاسته حاوی مخلوط نانورس و TiO_2.*

ترکیب فیلم	زاویه تماس اولیه (θ_1) (درجه)	زاویه تماس ثانویه (θ_2) (درجه)
PS-3%MMT	$^{B}39/21 \pm 0/89^{b}$	$^{B,C}27/49 \pm 2/87^{b,c}$
PS-3%MMT-0.5%TiO_2	$^{B}38/57 \pm 1/00^{b}$	$^{C,D}25/75 \pm 2/47^{c}$
PS-3%MMT-1%TiO_2	$^{A}41/88 \pm 1/29^{a}$	$^{A,B,C}28/43 \pm 2/72^{a,b,c}$
PS-3%MMT-2%TiO_2	$^{A}44/47 \pm 0/88^{a}$	$^{A,B}31/51 \pm 2/08^{a,b}$
PS-5%MMT	$^{C}35/23 \pm 2/37^{b'}$	$^{F}21/13 \pm 1/93^{c'}$
PS-5%MMT-0.5%TiO_2	$^{B,C}36/67 \pm 2/95^{a',b'}$	$^{E,F}21/47 \pm 1/77^{b',c'}$
PS-5%MMT-1%TiO_2	$^{B,C}37/42 \pm 2/07^{a',b'}$	$^{D,E,F}22/68 \pm 2/29^{a',b',c'}$
PS-5%MMT-2%TiO_2	$^{B}39/35 \pm 2/27^{a'}$	$^{C,D,E}36/66 \pm 2/63^{a',b'}$

*مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد، حروف غیریکسان کوچک و بزرگ در هر ستون به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌های حاوی سطح ثابت نانورس و سطوح مختلف TiO_2 و اختلاف معنی‌دار بین تمام نمونه‌ها است.

در زیست‌نانوکامپوزیت نشاسته حاوی 3 درصد نانورس با افزودن 1 درصد نانوذره TiO_2، مقدار زاویه تماس اولیه افزایش معنی‌داری یافته است و زاویه تماس ثانویه نیز به‌طور معنی‌دار از $27/49^{\circ}$ به $28/43^{\circ}$ افزایش پیدا کرده است. زاویه تماس اولیه و ثانویه فیلم PS-MMT-TiO_2 حاوی 3 درصد نانورس و 2 درصد TiO_2، به‌ترتیب به $44/47^{\circ}$ و $31/51^{\circ}$ افزایش یافته است که به‌طور معنی‌داری با فیلم دارای 3 درصد نانورس و 2 درصد TiO_2 (48/43 و 36/89 درجه) به‌تنهایی تفاوت دارد، اما با زاویه تماس اولیه و ثانویه فیلم خالص نشاسته (46/34 و 32/5 درجه) تفاوت معنی‌داری ندارد. بروز این رفتار را می‌توان به‌دلیل بالاتر بودن ویژگی آبگریزی نانوذرات TiO_2 نسبت به نانورس عنوان نمود که موجب کاهش و تعدیل تأثیر ماهیت آب‌دوستی نانورس بر ویژگی‌های مرطوب‌شوندگی سطحی زیست‌نانوکامپوزیت شده است. همچنین در فیلم‌های PS/MMT/TiO_2، ممکن است برهمکنش بین این سه جزء باعث کاهش تعداد گروه‌های هیدروکسیل در سطح MMT و به‌دنبال آن کاهش تمایل سطح فیلم نسبت به واکنش با مولکول‌های آب شود. اضافه نمودن مقادیر کم نانوذره TiO_2 (0/5 و 1 درصد) به فیلم نشاسته دارای 5 درصد نانورس، بر اندازه زاویه تماس اولیه و ثانویه و به‌عبارتی آب‌دوستی سطحی نانوکامپوزیت تأثیر معنی‌داری ندارد؛ اما افزایش غلظت نانوذره TiO_2 به میزان 2 درصد موجب افزایش معنی‌دار زاویه تماس اولیه و ثانویه به $39/35^{\circ}$ و $36/66^{\circ}$ می‌گردد. نتایج آزمون‌های جذب رطوبت، WVP و آزمون زاویه تماس آب فیلم‌های حاوی نانوذرات TiO_2 با همدیگر تطابق دارند. نتیجه مشابهی در مورد تأثیر استفاده هم‌زمان TiO_2 و نانورس بر خصوصیات مرطوب‌شوندگی سطحی نشاسته یا بیوپلیمرهای دیگر گزارش نشده است؛ اما Anitha و همکاران (2012)، اثر نانوذرات ZnO بر آب‌دوستی بیوپلیمر استات‌سلولز را مطالعه کردند و نشان دادند که حضور نانوذرات ZnO موجب افزایش معنی‌دار زاویه تماس

اولیه و ثانویه قطره آب در سطح فیلم شده است. آنها گیر افتادن مولکول‌های هوا در زیر قطره آب قرار گرفته در سطح بیوپلیمر را به‌عنوان دلیل کاهش آب‌دوستی سطحی بیان نمودند. در مطالعه‌ای که توسط Rhim و همکاران (2006) انجام شد، گزارش گردید که افزودن 5 درصد نانوذرات نقره به بیوپلیمر کیتوزان موجب افزایش معنی‌دار زاویه تماس قطره آب از $45/6^{\circ}$ به $50/4^{\circ}$ شده است؛ که نشان‌دهنده افزایش آبگریزی سطحی می‌باشد؛ اما نتایج ارائه شده توسط Liu و Huang (2008)، نشان داد که افزایش درصد نانوذرات نقره در ماتریس بیوپلیمری کیتوزان شبکه‌ای شده توسط Genipin موجب کاهش معنی‌دار زاویه تماس آب فیلم به‌دلیل ایجاد برهمکنش‌های الکترواستاتیک بین Ag^{+} و کیتوزان و درنتیجه کاهش یکنواختی سطح زیست‌نانوکامپوزیت شده است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش به‌منظور بهبود خواص کاربردی فیلم‌های نشاسته سیب‌زمینی از نانولایه‌های MMT و نانوذرات TiO_2 استفاده و اثر غلظت این نانوپرکننده‌ها بر ویژگی‌های مکانیکی، بازدارندگی نسبت به بخار آب و سطحی فیلم‌های نانوکامپوزیتی مطالعه شد. نتایج نشان داد که افزودن هم‌زمان دو نانوماده، ویژگی‌های مکانیکی و بازدارندگی را بهبود داده است. با افزایش محتوی MMT و TiO_2 میزان جذب رطوبت، حلالیت و نفوذپذیری کاهش یافته است. با وجود این، نانورس آب‌دوستی سطح را افزایش داده است؛ اما TiO_2 موجب افزایش آبگریزی استاتیک فیلم‌ها شده است. دلیل بهبود این ویژگی‌ها، سازگاری نانوذرات با نشاسته، توانایی پخش یکنواخت آنها در ماتریس بیوپلیمری و ایجاد برهمکنش‌های هیدروژنی و الکترواستاتیک بین نانوذرات با هم و با نشاسته می‌باشد. نتایج آزمون پراش پرتو X نشان داد که نحوه پخش غلظت 5 درصد نانورس در حضور نانوذرات TiO_2، از ورقه‌ای کامل به ورقه‌ای- بین‌لایه‌ای تغییر نموده است. بروز این پدیده به فروریزش صفحات نانورس روی‌هم و انبوهه‌شدن جزئی آنها در حضور TiO_2 نسبت داده شد. خصوصیات کاربردی فیلم مانند بازدارندگی، کشش‌پذیری و استحکام کششی به نحوه توزیع نانوذرات بستگی دارد.

منابع

اولیایی، س.ا.، قنبرزاده، ب.، مؤیدی ع.ا.، عبّاسی، ف.، 1395، تأثیر نانوپرکننده‌های دی‌اکسیدتیتانیم و مونت‌موریلونیت بر ویژگی‌های توپوگرافی، حرارتی و نوری فیلم‌های نانوبیوکامپوزیت بر پایه نشاسته، مجله علوم و صنایع غذایی ایران [در نوبت چاپ].

غلامی، ر.، دهقان‌نیا، ج.، قنبرزاده، ب.، 1392، مدل‌سازی نفوذپذیری بخار آب و جذب رطوبت در فیلم‌های نانوکامپوزیت نشاسته- مونت‌موریلونیت (MMT)، مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، 26، 3، 232-221.

نوشیروانی، ن.، قنبرزاده، ب.، انتظامی، ع.ا.، 1390، مقایسه خواص کششی، نفوذپذیری و رنگی زیست نانوکامپوزیت های بر پایه نشاسته حاوی دو نوع پرکننده: سدیم مونت موریلونیت و نانوبلور سلولوز، مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، 24، 5، 402-391.

Almasi, H., Ghanbarzadeh, B. and Entezami, A.A. 2010. Physicochemical properties of starch–CMC–nanoclay biodegradable films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46, 1, 1-5.

Anitha, S., Brabu, B., Thiruvadigal, D.J., Gopalakrishnan, C. and Natarajan, T.S., 2012. Optical, bactericidal and water repellent properties of electrospun nano-composite membranes of cellulose acetate and ZnO. *Carbohydrate Polymers*, 87, 1065– 1072.

ASTM. 2005. Standard test methods for water vapor transmission of material. E96-05. Annual book of ASTM, Philadelphia, PA: *American Society for Testing and Materials*.

ASTM. 2010. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-10. Annual book of ASTM, Philadelphia, PA: *American Society for testing and Materials*.

Bendahou, A., Kaddami, H., Espuche, E., Gouanve, F. and Dufresne, A. 2011. Synergism Effect of Montmorillonite and Cellulose Whiskers on the Mechanical and Barrier Properties of Natural Rubber Composites. *Macromolecular Materials and Engineering*, 296, 1–10.

Cyras, V. P., Manfredi, L. B., Ton-That, M. and Vazquez, A., 2008. Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/ montmorillonite nanocomposite films. *Journal of Carbohydrate Polymers*, 73, 55-63.

Deka, B. K. & Maji, T.K., 2011. Effect of TiO2 and nanoclay on the properties of wood polymer nanocomposite. Composites Part A: Applied Science and Manufacturing, 42, 12, 2117–2125.

Fakhri, L., Ghanbarzadeh, B., Dehghannia, J. and Entezami, A. A. 2012. The Effects of Montmorillonite and Cellulose Nanocrystals on Physical Properties of Carboxymethyl Cellulose/Polyvinyl Alcohol Blend Films. *Iranian Journal of Polymer Science and Technology*, 24, 6, 455-466.

Ghanbarzadeh, B., Almasi H. and Oleyaei, S. A. 2014. A Novel Modified Starch/ Carboxy Methyl Cellulose/ Montmorillonite Bionanocomposite Film: Structural and Physical Properties, *International Journal of Food*

Engineering, 10 (1): 121–130.

Ghanbarzadeh, B., Oleyaei, S. A. and Almasi H. 2015. Nano-Structured Materials Utilized in Biopolymer based Plastics for Food Packaging Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55:1699–1723.

Gholami, R., Dehghannia, J. and Ghanbarzadeh, B. 2013. Modeling Water Vapor Sorption and Permeability in Starch-Montmorillonite Nanocomposite Films. *Iranian Journal of Polymer Science and Technology*, 26, 3, 221-232.

Gontard, N., Duchez, C., Cuq, B. and Guilbert, S. 1994. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. Food *Science and Technology*, 29, 39-50.

Huang, M. F., Yu, J. G. & Ma, X. F., 2004. Studies on the properties of montmorillonite-reinforced thermoplastic starch composites. *Polymers*, 45, 7017-7023.

Kampeerapappun, P., Srikulkit, K., Pentrakoon, D., 2004. Preparation of cassava starch/montmorillonite nanocomposite film. *Journal of Science Research*. 29, 2, 183-197.

Li, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Zhao, G. and Leng, X. 2011. Fabrication and characterization of TiO2/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids*, 25, 6, 1-7.

Liu, B. & Huang, T.B., 2008. Nanocomposites of Genipin-Crosslinked Chitosan/Silver Nanoparticles–Structural Reinforcement and Antimicrobial Properties. *Macromolecular Bioscience Journals*, 8, 932–941.

Maksimov, R. D., Lagzdins, A., Lilichenko, N. and Plume, E. 2009. Mechanical Properties and Water Vapor Permeability of Starch/Montmorillonite Nanocomposites. *Polymer Engineering and Science*, 49, 12, 2421-2429.

Müller, C.M.O., Laurindo, J.B. and Yamashita, F. 2011. Effect of nanoclay incorporation method on mechanical and water vapor barrier properties of starch-based films. *Industrial Crops and Products*, 33, 3, 605-610.

Noushirvani, N., Ghanbarzadeh, B. and Entezami, A. A. 2012. Comparison of Tensile, Permeability and Color Properties of Starch-based Bionanocomposites Containing Two Types of Fillers: Sodium Montmorilonite and Cellulose Nanocrystal. *Iranian Journal of Polymer Science and Technology*, 24, 5, 391-402.

Oleyaei, S. A., Ghanbarzadeh, B., Moayedi, A. A. and Abbasi, F. 2017. The Effects of TiO2 and Montmorillonite Nanofillers on Structural, Thermal and Optical Properties of Starch based Nanobiocomposite Films. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 12, 5, 678-695.

Qu, L., Huang, G., Zhang, P., Nie, Y. and Weng, G. 2009. Synergistic reinforcement of nanoclay and carbon black in natural rubber. *Polymer International*, 59, 1397–1402.

Rhim, J.W., Hong, S.I., Park, H.M., & Ng, P.K.W., 2006. Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 5814−5822.

Rhim, J.W. 2007. Potential use of biopolymer-based nanocomposite in food packaging applications. *Food science and Biotechnology*, 16(5), 691-709.

Rhim, J.W. 2011. Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, 86, 691– 699.

Shan, G., Surampalli, R. Y., Tyagi, R. D. and Zhang, T. C., 2009. Nanomaterials for environmental burden reduction, waste treatment, and nonpoint source pollution control. *Frontiers of Chemical Engineering in China*, 3(3), 249–264.

Tang, C., Chen, N., Zhang, Q., Wang, K., Fu, Q. and Zhang, X. 2009. Preparation and properties of chitosan nanocomposites with nanofillers of different dimensions. *Polymer Degradation and Stability*, 94, 124–131.

Vergnaud, J.M. 1998. Problems encountered for food safety with polymer packages: chemical exchange, recycling. *Advances in Colloid and Interface Science*, 78, 267-297.

Yin, M., Li, C., Guan, G., Yuan, X., Zhang, D. & Xiao, Y., 2009. In-Situ Synthesis of Poly (Ethylene Terephthalate) /Clay Nanocomposites Using TiO_2/SiO_2 Sol-Intercalated Montmorillonite as Polycondensation Catalyst. *Polymer Engineering and science*, 1562-1572.

Zhou, J.J., Wang, S.Y. and Gunasekaran, S. 2009. Preparation and Characterization of Whey Protein Film Incorporated with TiO2 Nanoparticles. *Journal of Food Science*, 74, 7, 50-56.

Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M. and Hashemi, M. 2014. Development and characterization of the kefiran-whey protein isolate-TiO2 nanocomposite films, *International Journal of Biological Macromolecule*, 65, 340–345.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 611-626

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 626-611

Characterization of functional properties of starch based nanobiocomposite films containing montmorillonite and titanium dioxide

S. A. Oleyaei [1,2], B. Ghanbarzadeh[3*], A. A. Moayedi[4], P. Poursani[2], S. F. Mousavi Baygi[2], M. R. BakhshAmin[5]

Received: 2015.12.10
Accepted: 2016.04.23

Introduction: Biopolymers are a class of polymer, which are disintegrated by an enzymatic or bio-path and the products disseminated to the surroundings do not induce negative effects. Nowadays, non-degradable polymers are quid pro quo with biodegradable ones particularly in agricultural applications, environmental and food industry use. Starch is an example of natural biopolymers, biocompatible, which is completely biodegradable in environment. It has been considered as one of the best candidates for oil based polymer substitution due to its low cost, availability and processbility. The main disadvantages of starch based polymers are their high hydrophilic nature therefore; they have poor mechanical properties and are permeable to water vapor. However, these aspects could be considerably reclaimed by shuffling it with nanodimension materials such as itanium dioxide (TiO_2) and Montmorillonite (MMT). The main reason for this improvement in comparison with conventional composites is the large surface area of these nanomaterials which results in high interactions between the nanofillers and starch. The functional behaviors of nanocomposite films have been depended to the compatibility and degree of nanoparticles dispersion in the biopolymer matrix. TiO_2 is a 3D nanosphere has been perused widely because it is inexpensive, chemical inert and, has a high refractive index with visible and UV shielding potential. MMT as a 1D, platelet is the most commonly used layered silicates. The investigation of biodegradable films containing two different nanofillers simultaneously has been rarely done. TiO_2 and MMT as two different inorganic nanofillers have different physical and chemical structures, so simultaneously use of TiO_2 and MMT clearly had a new effect on the nanoparticle distribution and functional properties of starch films. The aim of this study was investigate the synergistic or antagonistic effect of combination of TiO_2 nanoparticles and MMT platelets on the functional properties such as surface hydrophobicity, water vapor permeability (WVP), moisture uptake (MU), Water Solubility (WS) and mechanical properties of plasticized starch-MMT-TiO_2 nanocomposites.

Materials and methods: 100 ml of potato starch solution with a concentration of 4% (w/v) was prepared by dispersion of starch in distilled water. It was gelatinized at 80 ºC for 15 min. Different amount of TiO_2 (0.5, 1 and 2% w/w starch) and MMT (3 and 5% w/w starch) were dissolved in distilled water and added to the gelatinized starch after treatment with ultrasound for 30 min. Glycerol with concentration of 50% (w/w starch) was added to the starch-nanofillers filmogenic solution. Bionanocomposite plasticized starch (PS) films were produced by casting and were dried in an oven at 45 °C for 15 hours. The X-Ray diffraction (XRD) measurements were performed for MMT and TiO_2 powder and starch-MMT and –TiO_2 nanocomposite films. The methodology of WVP measurements was based on the ASTM E96-05 (ASTM, 2005). Mechanical properties of the films were determined according to ASTM standard method D882-10 (ASTM, 2010). With some modifications, the methods described by Tunc et al., (2007) and Rhim et al., (2006) were used to determine MU and WS, respectively. Water contact angle (WCA) measurements were performed by the sessile drop procedure. The statistical analyses on a completely randomized design and were carried out using analysis of variance (ANOVA). Duncan's multiple range test ($p < 0.05$) was used to detect differences among the mean values of the functional properties.

1. Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran
2. Ph.D student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3. Professor of Food Chemistry, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz.
4. Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Crop Science Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran
5. Quality control manager, Tamata Agro-industry group, Khoshab Khorasan Tomato Paste Factory.
(*Corresponding Author Email: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir)

Results and discussion: XRD demonstrated the change of MMT layers dispersion pattern from exfoliation in binary PS-5%MMT films to exfoliation-intercalation in ternary PS-5MMT-TiO_2 films. These results showed that TiO_2 agglomerates are formed in the starch matrix with MMT level more than 3% wt. This could be due to the interaction between starch and MMT tends to be more favorable than TiO_2. Good dispersion of TiO_2, high miscibility of with clay, and continuous phase can be obtained when the content of MMT discs is low. Due to the strong interfacial interaction between the starch and MMT, the tensile strength (TS) increased considerably from4.86 to 5.24 MPa, while the elongation at break (EB) decreased significantly from 78.23 to 71.93%, As the MMT concentration varied from 3 to 5%. The TS of nanocomposite films were further improved after the incorporation of TiO_2. Suitable dispersal of TiO_2, and creation of new interactions in the PS-MMT network, causes to increase the tensile strength of nanocomposites. The TS and EB values of PS-3MMT-1TiO_2 nanocomposite film was higher than that of the other films. This is indicative of a synergistic effect between TiO_2 and MMT which increases the tensile strength and does not decrease the EB. In the PS-5% MMT films, both mechanical characteristics were reduced. WVP shows more evidences of synergistic effect of combination of 1D MMT and 3D TiO_2 on starch films. WVP reduction by MMT has been attributed to tortuous pathway which created by clay layers in the starch matrix. MMT platelets are water vapor impermeable, thus exfoliation of MMT reduce the voids in starch matrix. The PS-3MMT-2TiO_2 nanocomposite showed the lowest WVP as compared to other PS films. WVP was reduced significantly from 5.84×10^{-7} g/m.h.Pa in the PS-3%MMT binary film to 3.04×10^{-7} g/m.h.Pa in the PS-3%MMT-2%TiO_2 ternary film. TiO_2 have low water solubility and hydrophobicity compared with starch and MMT. Thus, significant decrement of WVP in the prophase of TiO_2 connoted that TiO_2 was obstructing the nano- and micro-pathways in the PS films network. With addition of MMT and TiO_2 content the water solubility and moisture absorption were reduced significantly. Results of water contact angle test confirmed the results of moisture absorption, solubility in water and water vapor permeability and showed that the addition of TiO_2 increased the surface hydrophobicity of starch-MMT films as with addition of 2% titanium dioxide in PS-3% MMT and PS-5% MMT films, the contact angle after 60 seconds increased 4 and 15 degree respectively. As a result, 1% wt TiO_2 nanoparticles (FDA maximum allowable) can be regarded as the optimum concentration and the developed starch based nanocomposite films can enable undertaking applications as appropriate candidates in food packaging systems.

Key words: Packaging, Solubility, Hydrophobicity, Mechanical Properties, Permeability.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 627-636

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 636-627

بررسی اثر فرایند فراصوت دمایی بر خصوصیات کیفی عصاره زرشک بی‌دانه (*Berberis vulgaris*)

محمد فرهادی چیتگر[1]- مهران اعلمی[*2]- الناز میلانی[3] - یحیی مقصودلو[4]

تاریخ دریافت: 1394/09/12
تاریخ پذیرش: 1395/01/15

چکیده

زرشک بی‌دانه (*B. vulgaris*) یکی از محصولات تجاری مهم کشور محسوب می‌شود که به شکل‌های مختلف به‌ویژه عصاره مورد فرآوری و مصرف قرار می‌گیرد. در این مطالعه اثر فرایند فراصوت دمایی به‌عنوان یکی از تکنولوژی‌های نوظهور در دو شدت 18/32 و 27/62 وات بر سانتی‌مترمربع در دمای 45 درجه سانتی‌گراد و به‌مدت 5 و10 دقیقه بر خصوصیات کیفی عصاره زرشک بی‌دانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این فرایند در تمام تیمارها باعث غیرفعال‌سازی کامل میکروارگانیسم‌ها شده است. میزان کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و شمارش کپک و مخمر پس از فرایند به ترتیب 0/10 ±3/68 و 0/48 ±3/34 سیکل لگاریتمی محاسبه شد. فرایند فراصوت دمایی به ویژه در شدت پایین (18/32 وات بر سانتی‌مترمربع) اثر ناچیزی بر میزان آنتوسیانین کل و رنگ عصاره زرشک داشت، ضمن این که افزایش معناداری ($p<0/05$) هم در ترکیبات فنلی کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های فرایند شده در این تیمارها مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که فرایند فراصوت دمایی می‌تواند جایگزینی برای فراوری حرارتی باشد.

واژه‌های کلیدی: فراصوت دمایی، خصوصیات کیفی، زرشک

مقدمه

زرشک بی‌دانه (*Berberis vulgaris*) یکی از محصولات کشاورزی بومی و با ارزش ایران است که به‌طور وسیعی درکشور به‌ویژه در استان‌های خراسان رضوی و جنوبی کشت می‌شود (فرهادی و همکاران، 1393). امروزه تکنولوژی تولید فراورده‌های جانبی این محصول رو به گسترش است و فرآورده‌هایی نظیر مربا، مارمالاد، آبمیوه، نوشابه، سس و ژله به‌صورت محدود از آن تهیه می‌شود (بالندری و کافی، 1381). زرشک دارای ترکیبات فعال زیستی با اثرات درمانی می‌باشد و می‌توان از آن به‌طورگسترده‌ای در صنایع غذایی و دارویی استفاده کرد. همچنین زرشک یکی از منابع غنی از آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنلی محسوب می‌شوند (فرهادی و همکاران، 1393). آنتوسیانین‌ها، مشتقات گلیکوزیدی پلی‌هیدروکسیلی متوکسیلی نمک‌های 2- فنیل بنزوپیریلیوم، رنگدانه غیرسمی و محلول در آب هستند که به‌طور گسترده‌ای در طبیعت یافت می‌شوند. این ترکیبات به‌دلیل داشتن گروه هیدروکسیل در موقعیت 3 حلقه C و موقعیت 3َ و 4َ از حلقه B دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Svarcova, *et al.*, 2007). علاوه بر این امروزه به دلیل خواص فراوان دیگری نظیر خواص ضدسرطانی، ضد التهابی، ضد حساسیت و پیشگیری از انسداد شریان قلب، کاهش کلسترول و فشار خون بالا، مصرف آن‌ها در دنیا بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Wang & Stoner, 2008). یکی از مشکلات آنتوسیانین‌ها مسئله پایداری آن‌ها است که تحت تاثیر عوامل مختلف به‌ویژه دما می‌باشد (Rein, 2005). لذا حفظ این رنگدانه‌ها در محصولات حاوی آن‌ها، طی فرآوری و نگهداری اهمیت زیادی دارد. روش‌های فرآوری بر کیفیت، سلامت و زمان ماندگاری مواد غذایی تاثیرگذار هستند. فرایند حرارتی سلامت ماده غذایی را تضمین و زمان ماندگاری آن را بهبود می‌بخشد ولی بر خصوصیات تغذیه‌ای آن اثر منفی دارد (Gomez *et al.*, 2011). به همین دلیل امروزه محققان به دنبال روش‌های جدید فرآوری هستند که بدون اعمال حرارت یا همراه با حرارت ملایم باشد. کاربرد فراصوت با توان بالا به‌عنوان روشی جایگزین در فرآوری مواد غذایی مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Cruz *et al.*, 2008).

1، 2 و 4- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
3- استادیار، گروه فرآوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی.
(* - نویسنده مسئول Email: Mehranalamogmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.51912

بهبود یکنواختی، اثر ناچیز بر طعم و ترکیبات مغذی و صرفه‌جویی در مصرف انرژی از مزایای این روش در مقایسه با فرایند حرارتی است (Chemat *et al.*, 2011). این تکنیک قادر است معیارهای مورد نیازسازمان غذا و داروی آمریکا (FDA)[1] در مورد فرآوری آبمیوه‌ها که کاهش 5 سیکل لگاریتمی در تعداد میکروارگانیسم‌ها است را برآورده کند (Salleh-Mack & Roberts, 2007). مطالعات نشان داده است که فراصوت باعث ایجاد شکست سلول‌های میکروبی طی پدیده کاویتاسیون می‌شود، با این وجود فراصوت به‌تنهایی قادر به غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها به‌طور کامل نیست، لذا نیاز است به‌منظور کاهش بیشتر بار میکروبی با سایر روش‌ها همراه گردد. ترکیب فراصوت با حرارت ملایم (ترموسونیکاسیون) و فشار بالا (مانوسونیکاسیون) باعث افزایش غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها می‌شود (Ortuño *et al.*, 2012). مطالعات متعددی در زمینه اثر فراصوت دمایی بر خصوصیات کیفی و کاهش بار میکروبی عصاره‌های سایر گیاهان انجام شده است. Alighourchi و همکاران (2014) گزارش کردند که فرایند فراصوت در دامنه 61 میکرومتر و دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه باعث کاهش 3/47 سیکل لگاریتمی در باکتری *اشریشیاکلی* تلقیح شده به آب انار گردید. Abid و همکاران (2014) گزارش نمودند که فرایند فراصوت دردمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 و 10 دقیقه منجر به غیرفعال‌سازی کامل باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرها در عصاره سیب گردید. Martínez-Flores و همکاران (2015) گزارش کردند که فرایند فراصوت دمایی در دمای50، 54 و 58 درجه سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه و در دامنه 120 میکرومتر ضمن غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها اثر معناداری بر کارتنوئیدها و اسید آسکوربیک آب هویج نداشته است. همچنین افزایشی جزئی در میزان استخراج ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در همه تیمارها مشاهده شده است.

با توجه به اثرات منفی فرایند حرارتی بر رنگ و میزان آنتوسیانین‌های عصاره زرشک، هدف از این مطالعه بررسی اثر فرایند فراصوت همراه با حرارت ملایم (ترموسونیکاسیون) بر غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها و خصوصیات کیفی عصاره زرشک نظیر میزان آنتوسیانین‌ها، ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و پارامترهای رنگی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

زرشک بی‌دانه از باغات شهرستان قائن خریداری شد. پس از جداسازی برگ، خارها و میوه های صدمه دیده، توسط دستگاه پرس دستی، عصاره‌گیری و سپس با استفاده از صافی پارچه‌ای، صاف شدند. کلیه مواد شیمیایی با درجه تجزیه‌ای از سیگما-آلدریچ خریداری شدند.

فرایند فراصوت دمایی

برای انجام فرایند فراصوت دمایی از سیستم فراصوت مدل Sonopuls HD 3200 BANDELIN ساخت کشور آلمان با فرکانس 20کیلوهرتز، دامنه 120 میکرومتر و قطر پروب 13 میلی‌متر استفاده شد. 60 میلی‌لیتر عصاره زرشک در محفظه دو جداره دستگاه ریخته شد. در جداره داخلی محفظه، آب با دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌منظور جلوگیری از افزایش دمای عصاره طی فرایند، با سرعت 0/5لیتر بر دقیقه جریان داشت. پروب دستگاه در فاصله 20 میلی‌متر از عمق نمونه قرار داده شد. نمونه‌ها در دو تیمار 70 و 100% دامنه به مدت 5 و 10 دقیقه در دمای ثابت 45 درجه سانتی‌گراد و زمان پالس 15 ثانیه روشن و 5 ثانیه خاموش، فرایند شدند. تیمارها به‌صورت TS[2]70-5، TS70-10، TS100-5 و TS100-10 نام‌گذاری شدند. نمونه بدون اعمال فرایند به‌عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد. محفظه دستگاه قبل از انجام هر تیمار با اتانول 70% ضدعفونی گردید و پس از فرایند، نمونه‌ها بلافاصله سرد و تا زمان انجام آزمون‌ها در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

محاسبه شدت فرایند فراصوت

شدت فرایند فراصوت مطابق با روش Mason (1990) با استفاده از روش کالری‌متری تعیین شد. ابتدا توان مطلق دستگاه (P) از رابطه زیر محاسبه شد.

$$P= m\, c\, (dT/dt) \qquad (1)$$

P: توان مطلق دستگاه بر حسب وات

m: جرم نمونه فرایند شده بر حسب کیلوگرم

c: گرمای ویژه زرشک بر حسب کیلوژول برکیلوگرم در درجه سانتی‌گراد

dT/dt: تغییرات دما نسبت به زمان بر حسب درجه سانتی‌گراد بر ثانیه

پس از محاسبه توان مطلق دستگاه شدت فرایند فراصوت(UI) از رابطه زیر محاسبه شد:

$$UI = 4P/\pi D^2 \qquad (2)$$

UI: شدت فراصوت بر حسب وات بر سانتی‌مترمربع

D: قطر پروب دستگاه فراصوت بر حسب سانتی‌متر

شدت فراصوت به‌ترتیب 18/32 و 27/62 وات بر سانتی‌مترمربع برای تیمارهای 70 و 100% دامنه محاسبه شد.

1 Food and Drug Administration

2 Thermo-sonication

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

بریکس عصاره توسط رفراکتومتردستی، pH توسط pH متر دیجیتالی (Metrohmlab) و برای اندازه‌گیری اسیدیته از روش پتانسیومتری و تیتراسیون با سود 0/1 نرمال تا pH= 8/1 بر اساس گرم اسید مالیک در لیتر عصاره استفاده شد (AOAC, 1984).

آنتوسیانین کل

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین‌ها ابتدا طیف جذبی آنتوسیانین‌های عصاره زرشک در بافر با pH= 1 در دامنه 300-700 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-160A مدل Shimadzu ترسیم گردید. با توجه به طیف جذبی بیشترین جذب در طول موج 499 نانومتر به‌دست آمد. میزان آنتوسیانین‌های کل نمونه‌ها بر اساس روش pH افتراقی توصیف شده توسط Lee و همکاران (2002) بدین صورت محاسبه شدند که ابتدا عصاره با بافرهای کلرید پتاسیم (pH=1) و استات سدیم (pH=4/5) رقیق و جذب آنها در طول موج ماکزیمم و طول موج 700 نانومتر قرائت شد، سپس از رابطه زیر میزان آنتوسیانین‌ها بر اساس پلارگونیدین 3-گلیکوزید تعیین گردید.

میزان آنتوسیانین کل $= A \times MW \times DF \times 1000 / \epsilon \times L$ (3)

DF: فاکتور رقت

A: اختلاف بین دو جذب $A = (A_{510} - A_{700})pH_{1.0} - (A_{510} - A_{700})pH_{4.5}$

MW: جرم مولکولی سیانیدین 3 -گلیکوزید

Є: جذب مولی(لیتر بر سانتی‌متر مول)

L: طول سل بر حسب سانتی‌متر

خاصیت آنتی اکسیدانی

خاصیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس درصد مهار رادیکال آزاد DPPH انجام شد (Bae &Suh, 2007). درصد مهار رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره از طریق معادله زیر محاسبه شد.

درصد مهار رادیکال‌های آزاد $= [(A_0 - A_1)/A_0 \times 100]$ (4)

اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنلی

میزان کل ترکیبات فنلی با روش اصلاح‌شده فولین سیوکالچو انجام شد (Singleton & Rossi, 1965). 100میکرولیتر از عصاره‌های رقیق شده با 6 میلی‌لیتر آب مقطر و 500 میکرولیتر محلول فولین سیوکالچو مخلوط شده و پس از 30 تانیه 1/5 میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم 20 درصد به آنها اضافه شد. میزان جذب نمونه پس از 2 ساعت نگهداری در دمای اتاق در طول موج 765 نانومتر خوانده شد.جهت رسم منحنی استاندارد از گالیک اسید استفاده شد و میزان ترکیبات فنلی برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در 100 میلی عصاره بیان شد.

پارامترهای رنگی

اندازه‌گیری پارامترهای رنگی (L^*،a^*،b^*) عصاره توسط دستگاه رنگ‌سنج مدل (colorflux, USA) انجام شد (Alighourchi and Barzegar 2009). پارامترهای کروما (C*) و تغییرات کلی رنگ (ΔE^*) از روابط زیر محاسبه شدند.

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (5)$$

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2] \quad (6)$$

آنالیز میکروبی

شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و تعداد کپک و مخمر در نمونه‌های فرایند شده و نمونه کنترل مطابق با روش استاندارد AOAC(1984) انجام شد. برای انجام شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها رقت مناسبی از نمونه‌ها به محیط کشت PCA (پلیت کانت آگار) اضافه و بعد از 48 ساعت انکوباسیون در دمای 30 درجه سانتی‌گراد شمارش انجام شد. برای آزمون کپک و مخمر نیز از محیط کشت PDA (پوتیتو دکستروز آگار) استفاده شد و نمونه‌ها پس از 5 روز انکوباسیون در دمای 25 درجه سانتی‌گراد شمارش شدند.

تجزیه وتحلیل آماری داده‌ها

کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف از معیار بیان گردید. اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال 5 درصد بین خصوصیات کیفی نمونه‌ها از طریق آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS16.0 انجام گردید.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

مقادیر pH، ماده جامد و اسیدیته عصاره زرشک فرایند نشده به‌ترتیب 3/65±0/37، 17/65±0/26 و 2/86±0/02 محاسبه شد (جدول1). اختلاف آماری معناداری در سطح (p<0/05) بین مقادیر pH، ماده جامد و اسیدیته در نمونه‌های فرایند شده و نمونه کنترل، مشاهده نشد.

سایر محققین نیز در بررسی اثر فرایند فراصوت دمایی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی عصاره‌های سیب (Abid *et al.*, 2014)، هویج (Martínez-Flores *et al.*, 2015)، لیمو (Bhat *et al.*, 2011) و انار (Alighourchi *et al.*, 2013) نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند.

جدول 1- اثر فرایند فراصوت دمایی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی عصاره زرشک

تیمار	pH	اسیدیته[1]	ماده جامد
کنترل	2/86± 0/02[a]	3/65± 0/37[a]	17/65± 0/26[a]
TS70-5	2/84± 0/02[a]	3/65± 0/31[a]	17/71± 0/15[a]
TS70-10	2/85± 0/03[a]	3/65± 0/24[a]	17/81± 0/18[a]
TS100-5	2/85± 0/01[a]	3/64± 0/29[a]	17/83± 0/25[a]
TS100-10	2/85± 0/01[a]	3/63± 0/33[a]	17/90± 0/22[a]

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر معنی دار بودن اختلافات در سطح احتمال 5 درصد است.

1- بر حسب گرم مالیک اسید بر 100 گرم عصاره

آنتوسیانین کل

اختلاف آماری معناداری ($p<0/05$) بین میزان آنتوسیانین کل در نمونه کنترل و نمونه‌های فرایند شده (به‌غیر از نمونه TS100-10) مشاهده نشد. میزان تخریب آنتوسیانین‌ها پس از فرایند فراصوت دمایی به‌ترتیب 0/03درصد،1/14درصد، 1/56درصد و10/79درصد در نمونه‌های TS70-5، TS70-10، TS100-5 و TS100-10 محاسبه شد. زرشک به‌عنوان منبع غنی از ترکیبات آنتوسیانینی مطرح است و حفظ این ترکیبات طی فرآوری علاوه بر افزایش خواص عملگر باعث بهبود رنگ عصاره حاصل نیز می‌شود. آنتوسیانین‌ها ترکیبات بسیار حساسی به تغییرات شدید فرایند نظیر دما، pH، نور، اکسیژن و حضور آنزیم‌ها هستند،از این رو مستعد به تخریب و افت خواص می‌باشند (Tiwari *et al.*, 2010). Patras و همکاران (2010) تخریب آنتوسیانین‌ها طی فرایند حرارتی را به باز شدن حلقه پیریلیوم و تشکیل چالکون‌ها نسبت دادند. تشکیل چالکون‌ها امروزه به‌عنوان اولین مرحله از تخریب آنتوسیانین‌ها شناخته می‌شود. مرحله بعدی تخریب، همراه با تشکیل ترکیباتی نظیرآلدئید، فلوئورگلوسینول و پروکاتچوئیک اسید است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که فرایند فراصوت دمایی اثر نامطلوبی بر میزان آنتوسیانین‌های عصاره زرشک نداشته است. Tiwari و همکاران (2009) گزارش کردند که فرایند فراصوت در دمای 25 درجه سانتی‌گراد اثر معناداری بر میزان آنتوسیانین‌های عصاره توت‌سیاه نداشته است و بیشترین میزان تخریب آنتوسیانین‌ها را 6 درصد در ماکزیمم شرایط فرایند یعنی دامنه 100 درصد به مدت 10 دقیقه به‌دست آوردند. همچنین این محققان در مطالعه دیگری بیان کردند که فرایند فراصوت در شدت کم و زمان‌های کوتاه باعث افزایش جزئی در میزان آنتوسیانین‌های عصاره انگور قرمز شده است. علت این پدیده به استخراج آنتوسیانین‌ها از ذرات معلق در عصاره در اثر فرایند فراصوت نسبت داده شد (Tiwari *et al.*, 2010). Herceg و همکاران (2013) اثر فرایند فراصوت دمایی در دانسیته انرژی صوتی 12/65-67/68 وات بر مترمربع و دمای 25-55درجه سانتی‌گراد و زمان 3-9 دقیقه و فرایند حرارتی (85 درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه)را بر پروفایل آنتوسیانین‌های عصاره توت فرنگی بررسی کردند. نتایج نشان داد که فرایند حرارتی باعث تخریب 7/4 درصدآنتوسیانین‌ها شده است در صورتی که در فرایند فراصوت دمایی درصد تخریب بین 6/4-6 درصد بود. شدیدترین تیمار یعنی دمای 55 درجه به مدت 9 دقیقه نیز باعث تخریب 9- 8/5 درصد آنتوسیانین‌ها شده بود.

جدول 2- فرایند فراصوت دمایی برمیزان آنتوسیانین، ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک

تیمار	آنتوسیانین کل (میلی‌گرم بر لیتر عصاره)	فنل کل (میلی‌گرم بر100میلی‌لیتر عصاره)	فعالیت آنتی اکسیدانی (%)
کنترل	662/92± 8/54[a]	1125/71± 9/45[b]	83/79± 0/76[c]
TS70-5	660/54± 7/23[a]	1273/93± 6/71[a]	88/72± 1/10[a]
TS70-10	655/31± 9/11[a]	1266/79± 5/52[a]	86/60± 0/83[b]
TS100-5	652/59± 6/41[a]	1077/50±7/45[c]	81/72± 0/54[d]
TS100-10	591/38± 8/38[b]	1009/64±7/57[c]	81/47± 0/62[d]

Sadilova و همکاران (2007) گزارش کردند که رادیکال‌های آزاد هیدروکسیلی تشکیل شده طی پدیده کاویتاسیون با باز کردن حلقه آنتوسیانین‌ها و تشکیل چالکون‌ها باعث تخریب آن‌ها می‌شوند.

فنل کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی

اثر فرایند فراصوت دمایی بر میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک در جدول 2 نشان داده شده است. میزان ترکیبات فنلی کل عصاره زرشک 1125/71 میلی‌گرم بر100 میلی‌لیتر عصاره محاسبه شد. افزایش معناداری (p<0/05) در ترکیبات فنلی کل نمونه‌های TS70-5 و TS70-10 مشاهده شد. پژوهش‌های پیشین نیز به افزایش ترکیبات فنلی در عصاره‌های شاتوت (Mohideen *et al.*, 2014)، گریپ‌فروت (Zafra-Rojas *et al.*, 2013) و سیب (Abid *et al.*, 2014) پس از فرایند با فراصوت در شدت‌های پایین اشاره داشته‌اند. بیشترین میزان ترکیبات فنلی کل برای نمونه TS70-5 محاسبه شد (1273/93میلی‌گرم بر100 میلی‌لیتر). در نمونه‌های فرایند شده با شدت بالاتر به ویژه TS100-10 ترکیبات فنلی کل به‌طور معناداری کاهش پیدا کرد. تشکیل رادیکال‌های آزاد که در شدت‌های بالاتر فراصوت تسریع می‌شود، می‌تواند دلیل کاهش ترکیبات فنلی در این نمونه‌ها باشد. افزایش ترکیبات فنلی در عصاره‌ها پس از تیمار با شدت‌های پایین فراصوت به استخراج ترکیبات فنلی از ذرات معلق در عصاره نسبت داده شده است (Patras *et al*.2010; Bhat *et al*., 2011). Ashokkumar و همکاران (2008) نیز علت افزایش ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها پس از تیمار با فراصوت را به هیدروکسیله شدن در موقعیت‌های پارا، متا یا اورتو منوفنل‌ها نسبت داده‌اند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی 83/79% برای نمونه کنترل به‌دست آمد. در اینجا نیز افزایش معناداری در خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های فرایند شده با شدت پایین و کاهش معناداری در خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های فرایند شده با شدت بالا مشاهد شد. سایر محققین نیز به افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های فرایند شده با فراصوت اشاره کرده‌اند (Golmohamadi *et al*., 2013; Bhat *et al*., 2011). علت این افزایش را می‌توان به همبستگی بالایی که بین ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد نسبت داد (Zheng&Wang, 2003).

پارامترهای رنگی

رنگ یکی از مهمترین فاکتورهایی کیفی جهت ارزیابی کیفیت محصولات غذایی محسوب می‌شود. سیستم رنگی CIEL*a*b* ابزار مهم وکارایی برای بررسی اثر فرایندهای مختلف بر روی مواد غذایی به‌ویژه عصاره‌ها می‌باشد (Wrolstad *et al*., 2005). فرایند فراصوت دمایی اثر معناداری (p<0/05) بر پارامترهای رنگی عصاره زرشک در مقایسه با نمونه کنترل داشته است (جدول 3). نتایج مشابهی توسط Herceg و همکاران (2013) در مورد اثر فراصوت دمایی بر پارامترهای رنگی عصاره توت‌فرنگی گزارش شده است. کمترین تغییرات در پارامترهای رنگی در نمونه TS70-5 و بیشترین تغییرات در نمونه TS100-10 مشاهده شد. Tiwari و همکاران (2008) بیان کردند که شدت اولتراسوند و زمان اثر معناداری بر پارامترهای رنگی عصاره توت فرنگی طی فرآوری با فراصوت داشته است. شرایط فیزیکی شدیدی که طی فرایند کاویتاسیون ایجاد می‌شود یکی از دلایل تخریب رنگ عصاره‌های تیمار شده با فراصوت دانسته شده است (Suslick, 1989). همچنین تخریب آنتوسیانین‌ها و تشکیل ترکیبات پلیمری (در اثر حرارت و یا ناشی از رادیکال‌های آزاد تشکیل شده طی فراصوت) دلیل دیگری برکاهش پارامترهای رنگی در عصاره‌های حاوی آنتوسیانین بیان شده است (Portenlänger & Heusinger, 1992). با توجه به پارامتر ΔE^* تفاوت کلی رنگ بین نمونه‌های فرایند شده و نمونه فرایند نشده به چهار دسته اندکی قابل توجه (ΔE^*<1/5)، قابل توجه (1/5<ΔE^*<3)، به‌خوبی قابل مشاهده (3<ΔE^*<6) و خیلی زیاد (6<ΔE^*<12) تقسیم‌بندی می‌شود (Cserhalmi *et al*., 2006). طبق جدول 3 تیمار TS70-5 باعث ایجاد تغییرات رنگ در محدوده قابل توجه و سایر تیمارها باعث ایجاد تغییرات رنگی شدند که به‌خوبی با چشم قابل مشاهده می‌باشد. Engmann و همکاران(2013) گزارش کردند که فراصوت در فرکانس‌های 26-22 کیلوهرتز و زمان 30-10 دقیقه باعث ایجاد تغییرات کلی رنگ در محدوده 9/12-1/34 در عصاره زمان 10-3 دقیقه شاتوت شده است.

در عصاره توت‌سیاه تغییرات کلی رنگ را 4/68-3/20 گزارش کردند. اگرچه فرایند فراصوت دمایی در پارامترهای این

Tiwari و همکاران (2009) نیز در بررسی اثر فراصوت در شدت 22/79-9/24 وات بر سانتی‌مترمربع بر عصاره توت‌سیاه گزارش کردندکه شدت‌های بالا اثر منفی بر رنگ عصاره توت‌سیاه داشته است ولی با توجه به سایر مزایای این فرایند با بهینه‌سازی شرایط فرایند (دما، زمان و شدت) می‌توان به تیمارهای مطلوب دست پیدا کرد.

غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها:

فرایند فراصوت دمایی در همه تیمارهای مورد بررسی اثر معناداری (p<0/05) در کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و تعداد کپک و مخمرها داشته است. شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و تعداد کپک و مخمر در نمونه کنترل به‌ترتیب 3/68± 0/1 log CFU و 3/34± 0/48 log CFU بود. غیرفعال‌سازی کامل در شمارش میکروارگانیسم‌ها در همه تیمارها حاصل شد. Patil و همکاران (2009)گزارش کردند که فراصوت در دامنه 37/5-0/4 میکرومتر باعث کاهش 5 سیکل لگاریتمی در باکتری *اشرشیاکلای* می‌شود. Bermúdez-Aguirre و Barbosa-Cánovas (2012) گزارش کردند که فرایند فراصوت دمایی (در دمای 50 و 60 درجه سانتی‌گراد

و در دانسیته انرژی صوتی 2/92-4/49 وات برمیلی‌لیتر) باعث 5/7-5/1 سیکل لگاریتمی کاهش در مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* عصاره‌های انگور، آناناس و قره قاط شده است. Herceg و همکاران (2013) نیز ٪100-58 غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها را در عصاره توت‌فرنگی که در معرض فرایند فراصوت دمایی در دانسیته انرژی صوتی 12/65-67/68 وات بر مترمربع و دمای 25-55درجه قرار گرفته بود را گزارش کردند. اثر ضدمیکروبی فرایند فراصوت دمایی به افزایش نفوذپذیری غشای سلولی طی پدیده کاویتاسیون و از دست رفتن قدرت انتخاب‌گری ایجاد نقاط داغ (Suslick, 1989) و رادیکال‌های آزاد نسبت داده شده است (Butz & Tauscher, 2002).

جدول 3- اثر فرایند فراصوت دمایی بر پارامترهای رنگی عصاره زرشک

تیمار	ΔE*	b*	a*	L*
کنترل	-	17/50± 0/04[a]	33/89± 0/12[a]	12/18± 0/04[a]
TS70-5	2/94± 0/19[c]	16/68± 0/03[b]	31/41± 0/09[b]	10/65± 0/02[b]
TS70-10	3/64± 0/12[b]	16/51± 0/06[b]	30/88± 0/07[c]	10/39± 0/04[c]
TS100-5	4/20± 0/07[a]	16/24±0/07[c]	30/38± 0/19[d]	10/25± 0/03[c]
TS100-10	4/40± 0/11[a]	16/20±7/57[c]	30/24± 0/46[d]	10/09± 0/04[d]

جدول 4- اثر فرایند فراصوت دمایی بر غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌های

تیمار	شمارش کلی میکروارگانیسم ها	شمارش کپک و مخمر
کنترل	3/68± 0/1[a]	3/34± 0/48[a]
TS70-5	[1]ND[b]	ND[b]
TS70-10	ND[b]	ND[b]
TS100-5	ND[b]	ND[b]
TS100-10	ND[b]	ND[b]

عصاره زرشک

نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر تیمارهای مختلف فرایند فراصوت دمایی بر خصوصیات کیفی عصاره زرشک بی‌دانه مورد بررسی قرار گرفت. این فرایند به‌ویژه در شدت‌های پایین ضمن غیرفعال‌سازی کامل میکروارگانیسم‌ها اثر ناچیزی بر رنگ و میزان آنتوسیانین‌های زرشک داشت. همچنین این فرایند میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک را افزایش داد. از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که فرایند فراصوت دمایی به‌دلیل اثرات تخریبی کم بر عصاره زرشک می‌تواند جایگزین مناسبی برای فرایند حرارتی باشد، هرچند مطالعات بیشتری در زمینه بهینه‌سازی شرایط فرایند ضروری به‌نظر می‌رسد.

منابع

بالندری، الف.، و کافی، م.، 1381، زرشک فناوری تولید و فرآوری، ناشر زبان و ادب مشهد، 41-18.

فرهادی چیتگر، م.، وریدی، م.، وریدی، م.ج.، و بالندری، احمد.، 1393، مقایسه برخی از خواص فیزیکی و شیمیایی سه ژنوتیپ زرشک بومی استان سمنان. پژوهش های علوم وصنایع غذایی ایران(در نوبت چاپ)

Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M.M., Wu, T., Lei, S., Ammar Khana, M. & Zeng, X., 2014. Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 984–990.

Alighourchi, H.,& Barzegar, M., 2009. Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanins of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 90, 179-185.

Alighourchi, H., Barzegar, M., Sahari, M. A. & Abbasi, S., 2014. Effect of sonication on anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant capacity of pomegranate juices. *International Food Research Journal*, 20, 1703-1709.

AOAC. 1984. *Bacteriological Analytical Manual* (6th ed.). Washington, DC.

Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L. & Vilkhu, K., 2008. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: a preliminary study on a model system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 155-160.

Bae, S.H. & Suh, H.J., 2007. Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. LWT – *Food Science & Technology*, 40, 955-962.

Bermúdez-Aguirre, D. & Barbosa-Cánovas, G.V., 2012. Inactivation of Saccharomyces cerevisiae in pineapple, grape and cranberry juices under pulsed and continuous thermo-sonication treatments. *Journal of Food Engineering*, 108, 383–392.

Bhat, R., Kamaruddin, N. S. B. C., Min-Tze, L. & Karim, A. A., 2011. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 1295-1300.

Butz, P., Tauscher, B., 2002. Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35, 279-284.

Chemat, F., Zill-E, H. & Khan, M.K., 2011. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonic Sonochemistry*, 18, 813-835.

Cruz, R.M.S., Vieira, M.C., Silva, & C.L.M., 2008. Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics. *Innovative Food Science Emerging Technology*, 9, 483-488.

Cserhalmi, Z., Sass-Kiss, A., Tóth-Markus, M., Lechner, N., 2006. Study of pulsed electric field treated citrus juices. Innovative Food Science&Emerging Technologies, 7, 49–54.

Engmann F., Ma, Y., Tchabo, W. & Ma, H., 2013. Ultersonication treatment effect on anthocyanins, color, microorganisms and enzyme inactivation of mulberry (*Moroseae niger*a) Juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39, 1-9.

Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J. & Nindo, C., 2013. Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 1316–1323.

Gómez, P.L., Welti-Chanes, J. & Alzamora. S.M., 2011. Hurdle technology in fruit processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2, 447-465.

Herceg, Z., Lelas, V., Jambrak, A.R., Vukušić, T. & Levaj, B., 2013. Influence of thermosonication on microbiological safety, color and anthocyanins content of strawberry juice. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 4, 26-37.

Lee, J., Durst, R. W. & Wrolstad, R. E. 2002., Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science*, 67, 1660-1667.

Mason, T.J. 1990. Sonochemistry: The Uses of Ultrasound in Chemistry. Royal Society of Chemistry, Cambridge, *England*, pp 120-130.

Martínez-Flores, H.E., Garnica-Romo, M.G., Bermúdez-Aguirre, D., Raj Pokhrel, P. & Barbosa-Canovas, G.V., 2015. Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food Chemistry*, 172, 650-656.

Mohideen, F.W., Mis Solval, K., Li, J., Zhang, J., Chouljenko, A., Chotiko, A., Prudente, Bankston, J.D. & Sathivel, S., 2014. Effect of continuous ultra-sonication on microbial counts and physico-chemical properties of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice. LWT *Food Science and Technology*, 60, 1-8.

Ortuno, C., Martínez-Pastor, M. T., Mulet, A. & Benedito, J., 2012. An ultrasound-enhanced system for microbial inactivation using supercritical carbon dioxide. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 15, 31-37.

Patil, S., Bourke, P., Kelly, B., Frías, J.M. & Cullen, P.J., 2009.The effects of acid adaptation on Escherichia coli inactivation using power ultrasound. *Innovative Food Science Emerging Technology*, 10, 486-490.

Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C. & Tiwari, B., 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 3-11.

Portenlänger, G. & Heusinger, H., 1992. Chemical reactions induced by ultrasound and Gamma-rays in aqueous solutions of L-ascorbic acid. *Carbohydrate Research*, 232, 291-301.

Rein, M., 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Helsinki University of Helsinki. pp. 10-14.

Sadilova, E., Carle, R. & Stintzing, F.C., 2007. Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and in vitro antioxidant capacity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51, 1461-1471.

Salleh-Mack, S.Z. & Roberts, J.S., 2007. Ultrasound pasteurization: the effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of Escherichia coli ATCC 25922. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14: 323–329.

Singleton, V.L. & Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phospholungistic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.

Suslick, K.S., 1989.The chemical effects of ultrasound. Scientific American, 80–87.

Svarcova, I.; Heinrich, J. & Valentova, K., 2007. Berry fruits as a source of biologically active compounds: the case of Lonicera caerulea. Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky Olomouc Czech Republic, 151, 163-174.

Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., Patras, A., Brunton, N. & Cullen, P. J., 2008. Stability of anthocyanins and ascorbic acid in sonicated strawberry juice during storage. *European Food Research and Technology*, 228, 717-724.

Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P. & Cullen, P. J., 2009. Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *Journal of Food Engineering*, 93, 166–171.

Tiwari, B., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P. & O'Donnell, C., 2010. Effect of ultra-sound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17, 598-604.

Wang, L.S. & Stoner, G.D., 2008. Anthocyanins and their role in cancer prevention. Cancer Letters, 269, 281-290.

Wrolstad, R. E., Durst, R. W. & Lee, J., 2005. Tracking Colour and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science and Technology, 16, 423-428*.

Zafrarojas, Q.Y., Cruzcansino, N., Ramirezmoreno, E., Delgadoolivares, L.,Villanueva- Sanchez, J, and Alanisgarcia, R., 2013. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (Opuntia ficus-indica) juice. *Ultrasonic Sonochemistry*. 20, 1283-1288.

Zheng, W., & Wang, S. Y., 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 502-509.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 627-636

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 636-627

Effect of Thermo-sonication on Quality Properties of Barberry (*Berberis vulgaris*) Juice

M. Farhadi[1] Chitgar, M. Aalami[2*], E. Milani[3], Y. Maghsoudlo[4]

Received: 2015.12.03
Accepted: 2016.04.03

Introduction: Barberry (*Berberis vulgaris*) from the distant past has been used as one of the main medicinal plants in Iran and many other countries. Currently, it has been known for pharmaceutical active compounds such as berberine, which has wide application in pharmaceutical industry. Barberry fruits are used in preparing sauces, jellies, candies, marmalades and especially fruit juices. Also, the fruit contains health promoting compounds such as polyphenols and anthocyanins. Anthocyanins are bioactive compounds present in many fruits, vegetables and their products. They are responsible for the wide array of colors present in flowers, petals, leaves, fruits and vegetables and are a sub-group within the flavanoids characterized by a C_6-C_3-C_6 skeleton. A substantial property of anthocyanin is their antioxidant activity, which plays an important role in prevention of neuronal and cardiovascular illnesses, cancer and diabetes, among others. Therefore, preservation of these compounds during processing of barberry juice is very important. Conventional thermal pasteurization is the common preservation technique used for fruit juice processing. Although this method inactivates microorganisms and enzymes causing spoilage and extends the shelf life of juices, but also it causes degradation of anthocyanins and loss of the nutritional quality of these products. Moreover, the increasing demand for natural and fresh fruit juice resulted in the development of various non-thermal technologies, such as radiation processing, osmotic dehydration, pulse electric field, sonication and high pressure. Power ultrasound has shown important advances in food processing and has a potential to meet the FDA requirement of a 5 log reduction in pertinent microorganisms found in fruit juice**.** Physical (cavitation, micromechanical shocks and mechanical effects) and chemical (formation of free radicals) mechanisms are responsible for the biocidal effect of sonication. Other advantages of this technology include low cost, reduced processing time and environmentally friendly technique**.** However, ultrasound by itself is not very effective for microbial inactivation and the use of other technologies during sonication such as temperature (thermo-sonication) and pressure (mano-sonication) has shown efficient results in inactivation of microorganisms. Thermosonication has been reported as an alternative to thermal pasteurization for processing of fruit juices such as strawberry juice, blackberry juice and orange juice. According to the negative effect of thermal processing on color and anthocyanins of barberry juice this study aimed to evaluate the effect of thermo-sonication as an emerging technology in two intensities 18.32 and 27.62 W/cm2 at 45°C for 5 and 10 minutes on the quality of barberry juice.

Material and methods: Barberry (*B. vulgaris*) ripe fresh fruits were collected from gardens of Qaen. Fruits were crushed into pieces in an electric blender. The mixture was then filtered through a nylon filter and kept in dark condition at 4°C before subjecting to thermosonication. Barberry juice was sonicated at 200W capacity batch sonication system (Sonopuls HD 3200 BANDELIN, Germany) and a constant frequency of 20 kHz with a 13mm probe. Barberry juice samples of 60 mL were placed in a 100 mL double wall cylindrical vessel pyrex glass through which water at 4±1°C and a flow rate of 0.5 L/min was circulated to attain a constant temperature in the juice sample during sonication. The samples were sonicated at 70 and 100% amplitudes levels for 10 and 15 min at 45°C with pulse durations of 15s on and 5s off (US70-5, US70-10, US100-5 and US100-10). After the sonication treatment, juice samples were kept in sterilized bottles and were stored at 4°C until further analysis. Total anthocyanin content of barberry juice was determined by the pH differential method and the color of juice samples was determined using a Chroma Meter (Color Flux, USA). The color values were expressed as L* (lightness), a* (redness/greenness) and b* (yellowness/blueness). The total phenolic content and antioxidant activity was determined by modified Folin–Ciocalteu method and DPPH radical scavenging activity. The counting of microorganisms was made using standard techniques (AOAC 1984), and included total plate counts and yeasts and molds. All experiments were carried out in at least three replicates and the results were expressed

1, 2 and 4. PhD Student, Associate Professor and Professor , Department of Food Science and Technology, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3. Assistant Professor, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR) Mashhad- Iran.
(*Corresponding Author Email: Mehranalamogmail.com)

as mean ± SD. The significant differences between mean values of juice samples were determined by analysis of variance (one way-ANOVA) using Dunkan's test at a significance level of $P< 0.05$. Data evaluation was performed using the SPSS software version16.

Results and discussion: The result showed that the processing in all treatments completely inactivated the microbial population. The reduction of total plate counts and yeast and mold counts after processing was equal to 3.68±0.1 and 3.34±0.48, respectively. Thermo-sonication, especially in low intensity (32/18 w/cm2) had little effect on total anthocyanin compounds of barberry juice. The losses in total anthocyanin content of juice samples were 0.03%, 1.14%, 1.56% and 10.79% in TS-70-5, TS-70-10, TS-100-5 and TS-100-10, respectively. Hydroxyl radicals produced by cavitation can be involved in the degradation of anthocyanins by opening of rings and formation of chalcone. Thermosonication had significant effect on color parameters of barberry juice. All the color values (L*, a*, b* and C*) of barberry juice treated with thermosonication treatment were decreased as compared to control. The color loss of barberry juice samples decreased with increasing the amplitude and time of thermosonication. Extreme physical conditions which occur within the bubbles during cavitational collapse at micro-scale reaction may be responsible for the degradation of color in fruit juices. A significant increase ($p<0.05$) in both total phenolic content and antioxidant activity of samples treated at TS-70-5 and TS-70-10 was observed. However, higher amplitude significantly decreased the total phenolic content and antioxidant activity of barberry juice. It has been shown the enhancement of total phenolic content in juices after sonication might be attributed to the facilitation the release of bound phenolic present in the suspended particles. Since there is a correlation between total phenolic content and antioxidant activity, the extraction of bound polyphenols due to cavitation can be presumed the increase in antioxidant activity. The result of this study showed that thermo-sonication could be used as an alternative to thermal treatment.

Keywords: Barberry juice, Quality properties, Thermosoniation

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 637-646

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 646-637

مقاله کوتاه پژوهشی

بررسی تاثیر جایگزینی ساکارز با شیره خرما بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی نوشیدنی مالت

فرناز حاجی‌اقراری[1]- عزیز همایونی‌راد[2*]- زینب رحیم‌زاده ثانی[1]

تاریخ دریافت: 1394/08/29
تاریخ پذیرش: 1395/01/15

چکیده

نوشیدنی مالت بدون الکل در بسیاری از کشورها به‌خصوص کشورهای مسلمان رایج است. در ایران این نوشیدنی بدون مرحله‌ی تخمیر و معمولا از مالت جو تهیه می‌شود. در این پژوهش اثر جایگزینی ساکارز با شیره خرما بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی در نوشیدنی مالت در طی 6 ماه نگهداری بررسی شد. در این مطالعه نوشیدنی مالت با نسبت‌های 100 به 0، 75 به 25، 50 به 50، 25 به 75 و 0 به 100 شیره خرما به ساکارز شیرین شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی نمونه‌ها در طی 6 ماه نگهداری بررسی شد. نتایج آزمون توسط نرم‌افزار $SPSS_{19}$ و آزمون دانکن بررسی شد. بررسی نتایج نشان داد تغییر معنی‌داری در میزان pH و ماده جامد محلول نمونه‌ها در طول شش ماه مطالعه مشاهده نشد ($p>0/05$). ازنظر قند احیا و رنگ بین نمونه‌ها با نمونه شاهد اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p<0/05$). قند کل در نمونه 100 درصد شیره خرما و نمونه شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت ($p>0/05$). در مورد ارزیابی حسی نیز نمونه دارای 75 درصد شیره خرما بیشتر از بقیه نمونه‌ها و حتی نمونه شاهد موردپسند ارزیابان قرار گرفت. با توجه به نتایج، جایگزینی ساکارز با شیره خرما در نوشیدنی مالت تأثیر نامطلوبی روی نوشیدنی مالت نداشت و می‌توان از تیمار حاوی 75 درصد شیره خرما به‌جای نمونه حاوی ساکارز استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: جایگزینی ساکارز، شیره خرما، نوشیدنی مالت، خصوصیات حسی.

مقدمه

نوشیدنی مالت بدون الکل در کشورهای متعددی مصرف می‌شود. بیشتر مردم به دلیل مضرات ناشی از مصرف الکل، از مصرف نوشیدنی‌های الکلی خودداری می‌کنند، همچنین در کشورهای اسلامی نوشیدنی‌های الکلی ممنوع می‌باشند. نوشیدنی‌ها بر اساس محتوای الکل به سه دسته الکلی (بیش از 1/2 %)، کم الکل (0/5-1/2 %) و بدون الکل (کمتر از 0/5 %) تقسیم می‌شود. نوشیدنی مالت بدون الکل فوایدی از جمله ممانعت از بیماری‌های قبلی و عروقی، سرطان و غیره دارد (Bamforth, 2002). برای تهیه نوشیدنی مالت معمولا از مالت جو استفاده می‌شود ولی گاهی از منابع دیگر مثل گندم، چاودار، یولاف و سورگوم نیز استفاده می‌کنند (Briggs *et al.*, 2004). نوشیدنی مالت معمولا با ساکارز شیرین می‌شود. ساکارز به‌عنوان یک شیرین‌کننده طبیعی ویژگی‌های عملکردی زیادی دارد، اما به دلیل ارتباط با برخی مشکلات سلامتی نظیر بیماری‌های قلبی، فشارخون، فساد دندان، چاقی و افزایش سطح گلوکز و انسولین خون که به‌ویژه برای افراد مبتلا به دیابت مضر است؛ از سوی دیگر به دلیل مسائل اقتصادی و تکنولوژیکی پژوهش‌های روزافزونی جهت یافتن جایگزین مناسب ساکارز با سایر شیرین‌کننده‌ها، در دست انجام است (Foulkes, 1977). انتخاب نوع شیرین‌کننده جایگزین و چگونگی حفظ کیفیت فراورده طی دوره نگهداری ازجمله مسائل مربوط به تولید فراورده تهیه شده با شیرین‌کننده جایگزین ساکارز می‌باشد (Tharp and Young, 2004). باید در نظر داشت که ساکارز علاوه بر نقش شیرین‌کنندگی، ویژگی‌های عملکردی فراوانی در محصولات ایفا می‌کند. در راستای یافتن جایگزین مناسب برای ساکارز مشکلات مربوط به بهینه‌سازی هنگام جایگزینی ساکارز، اثر نامطلوب بر طعم، ویژگی‌های فیزیکی محصول، استقبال مصرف‌کننده و محدودیت‌های قانونی موردتوجه قرار می‌گیرد (Hegenbart,

1 و 2- به‌ترتیب کارشناس‌ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز.
(* - نویسنده مسئول : Email: Homayounia@tbzmed.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.51604

1996).

خرما (*Phoenix dactylifera*) از محصولات مهم کشاورزی در ایران است. فرآورده‌های حاصل از عصاره خرما شامل شیره خرما، قند مایع خرما و پالپ خرما می‌باشد (Barreveld, 1993). شیره خرما عبارت است از مایع غلیظ دارای بریکس حداقل 68 که درنتیجه استخراج کلیه مواد محلول موجود در خرما از طریق عملیات مختلف به‌دست می‌آید. شیره خرما ماده غذایی با انرژی بالا، غنی از کربوهیدرات‌ها، منبع خوب مواد معدنی و همچنین ترکیب پیچیده‌ای از دیگر ساکاریدها، آمینو و ارگانیک اسیدها، پلی‌فنول‌ها و کاروتنوئیدها می‌باشد. گذشته از این شیره خرما غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد (Abbès *et al.*, 2011). شیره خرما تاکنون به‌صورت مستقیم یا به‌عنوان افزودنی در برخی فرمولاسیون‌های غذایی مثل بستنی، نوشیدنی‌ها، شیرینی‌جات، مربا و غیره مورداستفاده قرارگرفته است (Barreveld, 1993). کربوهیدرات‌های عمده خرما فروکتوز و گلوکز می‌باشد که به آسانی توسط بدن انسان جذب می‌شوند (Al-Farsi *et al.*, 2005; Myhara *et al.*, 1999) فروکتوز بدون نیاز به ترشح انسولین و افزایش گلوکز خون متابولیزه می‌شود (Mayes, 1993). مطالعات چندی در زمینه استفاده از شیره خرما در فراورده‌های غذایی صورت گرفته است. در مطالعه‌ای جایگزینی قند مایع خرما با قند اینورت در کیک لایه‌ای بررسی شد، نتایج کلی نشان داد که جایگزینی 50 درصد قند مایع خرما با اینورت در کیک لایه‌ای با توجه به فاکتورهای فعالیت آبی (a_w)، ارزیاب‌های حسی و نرمی بافت مطلوب بود (احمدی و همکاران، 1389). در مطالعه‌ای دیگر تأثیر جایگزینی ساکارز با شیره خرما بر ویژگی‌های فیزیکی و حسی بستنی نرم مورد بررسی قرار گرفت. بررسی نتایج آزمون‌های حسی نشان داد که جایگزینی تا سطح 50 درصد و گاهی 75 درصد تأثیر معنی‌داری بر ویژگی عطر، طعم، بافت و پذیرش کلی در مقایسه با نمونه شاهد نداشته است ($p<0/05$) (گوهری اردبیلی، 1384).

در پژوهش حاضر امکان استفاده از شیره خرما به‌عنوان جایگزین شکر و تأثیر آن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی نوشیدنی مالت مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا نوشیدنی مالت شاهد و نوشیدنی‌های با نسبت‌های مختلف از شیره خرما تهیه شد، سپس از نوشیدنی‌های تولیدی در مدت 6 ماه در روزهای 1، 7، 14، 21، 28، 60، 90، 120، 150 و 180 نمونه‌گیری شد و از نمونه‌ها جهت بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در تولید نمونه‌های مختلف نوشیدنی مالت با شیره خرما و نوشیدنی مالت شاهد در جدول (1) آمده است. از مالت جو تهیه شده در کارخانه سرد صحرا برای تولید تمامی نمونه‌ها استفاده شد. از شکر سفید با درجه خلوص 99 درصد تولید کارخانه قند خوی و شیره خرما (pH=4/5 و بریکس=2±70) محصول شرکت شهد باب پارس برای تولید نمونه‌ها استفاده شد.

جدول 1- مقدار ساکارز و شیره خرمای مورد استفاده برای تولید نوشیدنی مالت شاهد و نوشیدنی مالت با درصدهای مختلف شیره خرما برحسب کیلوگرم

	تیمارها	مالت	شیره خرما	ساکارز
1	**نوشیدنی مالت با 100 درصد شیره خرما**	2/5	4/2	0
2	**نوشیدنی مالت با 75 درصد شیره خرما**	2/5	3/15	0/625
3	**نوشیدنی مالت با 50 درصد شیره خرما**	2/5	2/1	1/25
4	**نوشیدنی مالت با 25 درصد شیره خرما**	2/5	1/04	1/875
5	**نوشیدنی مالت شاهد (با ساکارز)**	2/5	0	2/5

محاسبه مقدار شیره خرما لازم برای جایگزینی با ساکارز

شاخص شیرینی توسط Baldwin و همکارانش (1998) به‌عنوان معادله ساکارز طبق فرمول زیر تعریف‌شده است:

(1) معادله ساکارز= 1 (ساکارز) + 0/74 (گلوکز) + 1/73 (فروکتوز)

شیرینی شیره خرما با استفاده از درصد قندهای موجود در شیره خرما که توسط کارخانه شهد باب پارس اندازه‌گیری شده بود توسط فرمول (1) بدست آمد. برای به‌دست آوردن مقدار دقیق شیره خرما و جانشین کردن آن با ساکارز بریکس نیز باید در فرمول (1) جایگزین شود، چراکه بریکس شیره خرما و ساکارز متفاوت می‌باشد. درنتیجه به معادله زیر می‌رسیم:

فرمول (2)

بریکس شیره خرما ×شیرینی شیره خرما (به‌دست‌آمده از فرمول 1) × مقدار شیره خرما = بریکس ساکارز× شیرینی ساکارز (برابر 1) × مقدار ساکارزی که در فرمولاسیون استفاده می‌شود

با توجه به فرمول (2) می‌توانیم مقدار شیره خرما که باید به‌جای ساکارز جایگزین کنیم تا همان مقدار شیرینی حاصل شود محاسبه کرد.

روش تولید نوشیدنی مالت

تهیه نوشیدنی مالت در کارخانه سرد صحرا و تحت شرایط نیمه‌صنعتی انجام گرفت. مالت وارد دیگ پخت شد و با آب مخلوط گردید، پس از تکمیل فرآیند پخت، مواد داخل دیگ پخت وارد سانتریفوژ شد و مواد جامد از مایع[1] جدا شد، سپس مایع وارد دیگ جوش شد، حداکثر دمای تانک جوش 90 درجه سانتی‌گراد بود. در این مرحله شیرین‌کننده و رازک افزوده شد. برای تهیه تیمارها با شیره خرما در این مرحله در هر بار تولید شیره خرما به نسبت‌های 100 به 0، 75 به 25، 50 به 50، 25 به 75 با ساکارز جایگزین شد. سپس شربت مالت حدود 90 دقیقه در این تانک ماند و به تانک ترسیب منتقل شد که ذرات پروتئین که در مراحل قبلی شکسته بودند رسوب کرده و مایع زلال در بالا قرار گرفت. مایع وارد سردکننده شده و دمای آن از 95 درجه به 5 درجه سانتی‌گراد رسید. بعد از این مرحله وارد فیلترهای صافی شده و ذرات ریز نیز گرفته شد، پس از آن وارد تانکر شده و در آنجا اسانس و اسیدسیتریک اضافه شد، بریکس به 7 رسانده شد و pH در حدود 3/8 تنظیم شد. درنهایت نوشیدنی در بطری‌های پت (پلی‌اتیلن ترفتالات) 320 میلی‌لیتری پر شده و در تونل پاستوریزاسیون در دمای 70 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه پاستوریزه شد.

درنهایت 4 تیمار با درصدهای ذکر شده حاوی شیره خرما و یک تیمار حاوی صفر درصد شیره خرما تهیه شد. در ادامه تغییرات pH، مواد جامد محلول، قند احیا، قند کل و ویژگی‌های حسی نوشیدنی‌ها در مدت 6 ماه در روزهای 1، 7، 14، 21، 28، 60، 90، 120، 150 و 180 اندازه‌گیری گردید.

ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی

pH: بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره 2279 سال 1390 pH نمونه‌ها از 7 به 3/8 کاهش داده شد. اندازه‌گیری pH طبق استاندارد ملی ایران به شماره 2280 سال 1386 و توسط pH متر نک[2] مدل 766 ساخت آلمان انجام شد.

مواد جامد محلول: از رفراکتومتر ABBE Refractometer 2WAJ ساخت انگلستان برای اندازه‌گیری مواد جامد محلول استفاده شد. مواد جامد محلول نوشیدنی‌ها طبق استاندارد ملی ایران به شماره 2279 سال 1390 روی 6 ثابت شده بود.

قند احیا و قند کل: جهت اندازه‌گیری قند احیا و قند کل طبق استاندارد ملی ایران به شماره 2685 سال 1386 از روش تیترسنجی لین و آینون استفاده شد.

رنگ: برای اندازه‌گیری رنگ نوشیدنی مالت از روش EBC[3] استفاده شد. روش EBC بر پایه اسپکتروفوتومتری است. در این روش جذب نمونه در طول‌موج 430 نانومتر اندازه‌گیری شده و با ضرب شدن در عدد 25، عدد رنگ به‌دست می‌آید (White, 1995). جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر سسیل مدل wks3000 ساخت انگلستان و سل 10 میلی‌متری ساخت آمریکا در طول‌موج 430 nm اندازه‌گیری شد.

ارزیابی حسی نوشیدنی مالت

در این پژوهش به‌منظور ارزیابی حسی محصولات تولیدشده، از دانشجویان علاقه‌مند از دانشکده تغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز دعوت شد. 8 نفر ارزیاب برای انجام کار ارزیابی حسی نوشیدنی مالت انتخاب شدند. بعد از گزینش این افراد و قبل از شرکت آن‌ها در ارزیابی، آموزش لازم درزمینه‌ی معیارهای انتخاب هریک از گزینه‌های موجود در پرسش‌نامه‌ی ارزیابی کیفی ارائه شد. نمونه‌ها در ظروف مشابه که با اعداد سه‌رقمی تصادفی رمزگذاری شده بودند، به ارزیاب‌ها ارائه شدند. ارزیابی کیفی با ارائه پرسش‌نامه به افراد و به‌صورت کنترل‌شده انجام گرفت. در پرسشنامه مذکور که قسمت‌های مختلف آن آموزش داده‌شده بود، از افراد خواسته شد که به هر یک از ویژگی‌های نوشیدنی مالت ازجمله رنگ، طعم، پرکنندگی دهانی امتیاز دهند و درنهایت میزان پذیرش کلی خود را با استفاده از مقیاس فاصله‌ای تعیین کنند. سیستم امتیازدهی از 1 تا 5 بود که 1 (بسیار ضعیف)، 2 (ضعیف)، 3 (متوسط)، 4 (خوب)، 5 (بسیار خوب) بود و از داوران خواسته شد که به هریک از ویژگی‌ها امتیاز موردنظر خود را بدهند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند. از طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری 5 درصد استفاده شد. برای بررسی نتایج ارزیابی حسی از آزمون کروسکال والیس استفاده شد. برای آنالیز آماری نتایج از نرم‌افزار SPSS نسخه 19 استفاده گردید.

نتایج و بحث

pH

بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره 2279 سال 1390 pH نمونه‌ها به 3/8 کاهش داده شد. pH نوشیدنی مالت حاوی صفر، 25، 50، 75 و 100 درصد شیره خرما در طی روزهای 1، 7، 14، 21، 28،

1 Wort
2 knick
3 European Brewery Convention

60، 90، 120، 150 و 180 در جدول 2 نشان داده شده است. نتایج نشان‌دهنده این است که در طی 6 ماه نگهداری تفاوت معنی‌داری بین pH تیمارها مشاهده نشد($p>0/05$).

Hosseini و همکاران (2012) به نتایج مشابهی رسیده بودند و pH در نمونه نوشیدنی مالت با شکر ثابت بود و تغییری نکرده بود. در این آزمایش چون فرآیند پاستوریزاسیون به‌طور کامل در دمای 70 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه انجام‌شده بود هیچ‌گونه رشد میکروبی مشاهده نشده و بالطبع تغییری در pH حاصل نشد. عدم‌تغییر pH در طول زمان 6 ماهه نگهداری نوشیدنی مالت پاستوریزه که در فرمولاسیون آن از شیره خرما به‌جای ساکارز استفاده‌شده بود، یک ویژگی مطلوب بوده و نشان می‌دهد که جایگزینی ساکارز با شیره خرما اثر نامطلوبی ازنظر pH در نوشیدنی مالت برجای نمی‌گذارد.

جدول 2- میانگین pH در 5 نمونه نوشیدنی مالت در مدت 6 ماه نگهداری

شیره خرما(٪) / روز	1	7	14	21	28	60	90	120	150	180
%100	3/8	3/8	3/8	3/79	3/79	3/79	3/79	3/79	3/78	3/78
%75	3/8	3/8	3/8	3/79	3/79	3/79	3/79	3/79	3/78	3/78
%50	3/8	3/8	3/79	3/79	3/79	3/79	3/79	3/79	3/78	3/78
%25	3/8	3/8	3/79	3/79	3/79	3/79	3/79	3/79	3/78	3/78
%0	3/8	3/8	3/8	3/79	3/79	3/79	3/79	3/79	3/78	3/78

مواد جامد محلول

مواد جامد محلول نوشیدنی‌ها طبق استاندارد ملی ایران به شماره 2279 سال 1390 روی 6 ثابت شده بود. در طی زمان مطالعه تغییری در مواد جامد محلول نمونه‌های نوشیدنی مالت مشاهده نشد ($p>0/05$) و همچنان روی عدد 6 ثابت بود.

Hosseini و همکاران (2012) به نتایج مشابهی رسیده بودند و مواد جامد محلول در نمونه نوشیدنی مالت با شکر ثابت بوده و در طی 6 ماه نگهداری تغییری نکرده بود. مواد جامد محلول، میزان مواد آلی و غیرآلی محلول در یک مایع است. در طی نگهداری نمونه‌ها ماده‌ای افزوده و یا کم نشده است و همچنین نمونه‌ها در بطری‌های دربسته بودند و نیز رسوب یا مواد نامحلول مشاهده نشد، که با توجه به نتایج نیز تغییرات مواد جامد محلول ثابت بود. مواد جامد محلول برای تمامی نمونه‌ها در طول 6 ماه نگهداری برابر با 6 بود که نشانگر این است که جایگزینی ساکارز با شیره خرما اثر نامطلوبی ازنظر مواد جامد محلول در نوشیدنی مالت نداشته است.

قند احیاء

مقایسه میانگین‌های قند احیاکننده‌ی نمونه‌ها نشان داد نمونه‌های نوشیدنی که شیره خرما در آنها استفاده شده به‌طور معنی‌داری قند احیای بالاتری داشتند ($p<0/05$) (شکل 1). Yaseen و همکاران (2013) گزارش کرده بودند که مافین‌هایی که غلظت بیشتری از شیره خرما را داشتند قند احیای بیشتری نیز داشتند. با توجه به اینکه قند شیره‌ی خرما متشکل از قندهای احیای فروکتوز و گلوکز می‌باشد (Al-Farsi *et al*., 2005; Myhara *et al*., 1999) درنتیجه با افزایش درصد شیره خرما در نوشیدنی مالت میزان قند احیاء افزایش پیدا می‌کند (شکل 1). فروکتوز و گلوکز کربوهیدرات‌های عمده خرما می‌باشد که به‌آسانی توسط بدن انسان جذب می‌شوند (Al-Farsi *et al*., 2005; Myhara *et al*., 1999) و فروکتوز بدون نیاز به ترشح انسولین و افزایش گلوکز خون متابولیزه می‌شود (Mayes, 1993) درنتیجه نوشیدنی‌های تهیه شده با شیره خرما می‌توانند این امکان را داشته باشند که برای افراد دیابتی نسبت به نوشیدنی مالت تهیه شده با ساکارز مفیدتر باشند.

قند کل

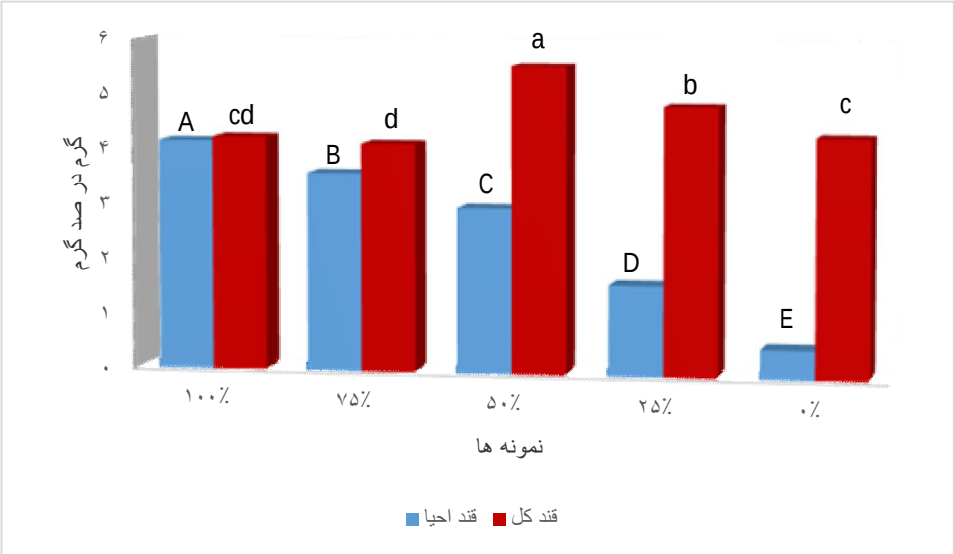
مقایسه میانگین‌های قند کل نشان داد که بین تیمارهای 75٪،50٪ و 25٪ با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$) وجود دارد به‌جز تیمار شماره 100٪ که با نمونه شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0/05$) (شکل 1). طبق استاندارد ملی ایران به شماره 2279 سال 1390 میزان قند کل نوشیدنی مالت حداکثر 9 گرم درصد میلی-لیتر می‌باشد که قند کل نوشیدنی‌های مالت با درصدهای مختلف شیره خرما مطابق با استاندارد بوده و در این محدوده می‌باشند، پس جایگزینی ساکارز با شیره خرما اثر نامطلوبی از نظر قند کل در نوشیدنی مالت برجای نمی‌گذارد. قند کل نمونه‌های نوشیدنی مالت حاوی 100 درصد شیره خرما با نوشیدنی مالت شاهد معنی‌دار نبود ($p>0/05$)، همچنین با توجه به این‌که قند کل دیگر نمونه‌ها نیز مطابق با استاندارد می‌باشد بنابراین نمونه‌ها ازنظر قند کل مناسب می‌باشند، ولی به دلیل نزدیک بودن قند کل نمونه‌های با 75 و 100 درصد شیره خرما به نمونه شاهد این تیمارها مناسب‌تر می‌باشند. Hosseiniو همکاران (2012) به این نتیجه رسیده بودند که قند کل در نوشیدنی مالت با ساکارز در طی شش ماه نگهداری کاهش یافته

ولی قند کل در نمونه‌های ما در طی شش ماه نگهداری ثابت بود.

رنگ

بررسی میانگین‌ها بین نمونه‌های نوشیدنی مالت نشان داد بین تیمارها با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار (p<0/05) وجود داشت (شکل 2)، اما در طی 6 ماه نگهداری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>0/05) (جدول 3).

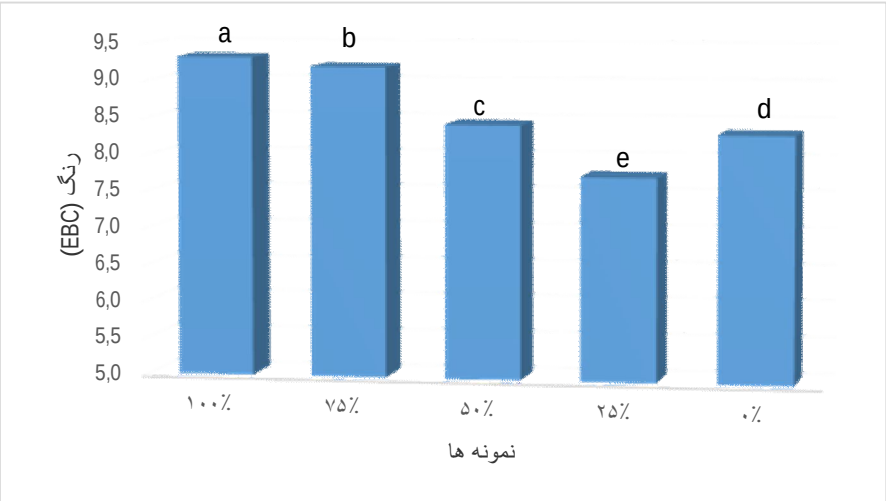
رنگ نوشیدنی مالت بر اساس مقیاس EBC از صفر شروع می‌شود که هرچه بیشتر شود رنگ تیره‌تر می‌شود. رنگ نوشیدنی مالت با 100 درصد شیره خرما با توجه به درجه‌بندی رنگ EBC حدود 9/3 بود. با کاهش درصد شیره خرما، رنگ نیز کاهش یافت. به دلیل رنگ شیره خرما و همچنین انجام واکنش قهوه‌ای شدن در مجاورت قندهای ساده تشکیل‌دهنده‌ی خرما رنگ نمونه‌ی 100% بیشتر از بقیه نمونه‌ها بود..



شکل 1- مقایسه میانگین تأثیر تیمار غلظت شیره خرما بر میزان قند احیاء و قند کل نمونه‌های آزمایش

a-c: حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری (p<0/05) قند کل در نمونه‌ها می‌باشد.

A-C: حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری (p<0/05) قند احیا در نمونه‌ها می‌باشد.



شکل 2- میزان رنگ در 5 تیمار نوشیدنی مالت

a-c: حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری نمونه‌ها می‌باشد (p<0/05).

جدول 3- رنگ نمونه‌های نوشیدنی مالت در طی 6 ماه نگهداری

شیره‌خرما(%)روز	1	7	14	28	60	90	120	150	180
%100	9/32^{aA}	9/31^{aA}	9/31^{aA}	9/32^{aA}	9/325^{aA}	9/31^{aA}	9/325^{aA}	9/32^{aA}	9/35^{aA}
%75	9/187^{bA}	9/23^{bA}	9/209^{bA}	9/187^{bA}	9^{bA}	9/25^{bA}	9/225^{bA}	9/256^{bA}	9/275^{bA}
%50	8/437^{cA}	8/44^{cA}	8/44^{cA}	8/432^{cA}	8/45^{cA}	8/441^{cA}	8/436^{cA}	8/437^{cA}	8/45^{cA}
%25	7/762^{dA}	7/768^{dA}	7/765^{dA}	7/77^{dA}	7/725^{dA}	7/747^{dA}	7/76^{dA}	7/755^{dA}	7/775^{dA}
%0	8/33^{eA}	8/356^{eA}	8/365^{eA}	8/351^{eA}	8/325^{eA}	8/33^{eA}	8/351^{eA}	8/329^{eA}	8/375^{eA}

a-e: در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$) بین نمونه‌ها می‌باشد.

A-E: در هر سطر، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$) بین نمونه‌ها می‌باشد.پ

Vandehaegen و همکاران (2007) با اندازه‌گیری رنگ در طی یک سال به این نتیجه رسیدند که رنگ افزایش می‌یابد، ولی افزایش جزئی رنگ در نمونه‌های ما معنی‌دار نبود (جدول 3). رنگ نمونه‌های حاوی شیره خرما به‌طور معنی‌دار با رنگ نمونه شاهد تفاوت داشت ($p<0/05$) (شکل 2)، ولی با توجه به استاندارد ملی ایران به شماره 2279 سال 1390 که رنگ نوشیدنی مالت حداقل باید EBC 4 باشد، رنگ هیچ‌یک از نمونه‌های نوشیدنی مالت خارج از این محدوده نبودند که نشان‌دهنده این می‌باشد که جایگزینی ساکارز با شیره خرما اثر نامطلوبی روی رنگ نوشیدنی مالت ندارد

ارزیابی حسی

نتایج حاصل از ارزیابی حسی نوشیدنی‌ها طبق داده‌های جدول (4) به‌دست‌آمده است. در مورد شاخص رنگ بالاترین امتیاز به نمونه شاهد اختصاص یافت که با نمونه 100 و 75 درصد تفاوت معنی‌داری ندارد ($p>0/05$). در مورد شاخص طعم بالاترین امتیاز مربوط به نمونه 100 درصد شیره خرما می‌باشد که با نمونه‌ی شاهد تفاوت معنی‌داری ($p<0/05$) ایجاد کرده و پس از آن نمونه 75 درصد دومین رتبه را به خود اختصاص داده است. در مورد شاخص پرکنندگی دهانی بالاترین رتبه مربوط به نمونه 100 درصد می‌باشد که با نمونه شاهد تفاوت معنی‌دار ندارد ($p>0/05$). در مورد پذیرش کلی بالاترین رتبه مربوط به نمونه 75 درصد می‌باشد که با نمونه شاهد تفاوت معنی‌دار ایجاد کرده ($p<0/05$)، پس از آن نمونه 100 درصد دومین رتبه را به‌خود اختصاص داده است.

پس از مقایسه یافته‌های حاصل از ارزیابی حسی نوشیدنی مالت توسط داوران، تیمار دارای 75% شیره خرما از نظر پذیرش کلی بیشترین امتیاز را کسب کرده و به‌طور معنی‌داری بهتر از نمونه‌ی شاهد بود. شیره‌ی خرما علاوه بر شیرینی دارای طعم و عطر خاص خرما می‌باشد، به‌همین علت در طعم فرآورده نهایی در تیمارهای با 100 و 75% شیره خرما تفاوتی قابل تشخیص با نمونه شاهد مشاهده شد، به‌طوری‌که این اختلاف ازنظر آماری نیز معنی‌دار بود ($p<0/05$)

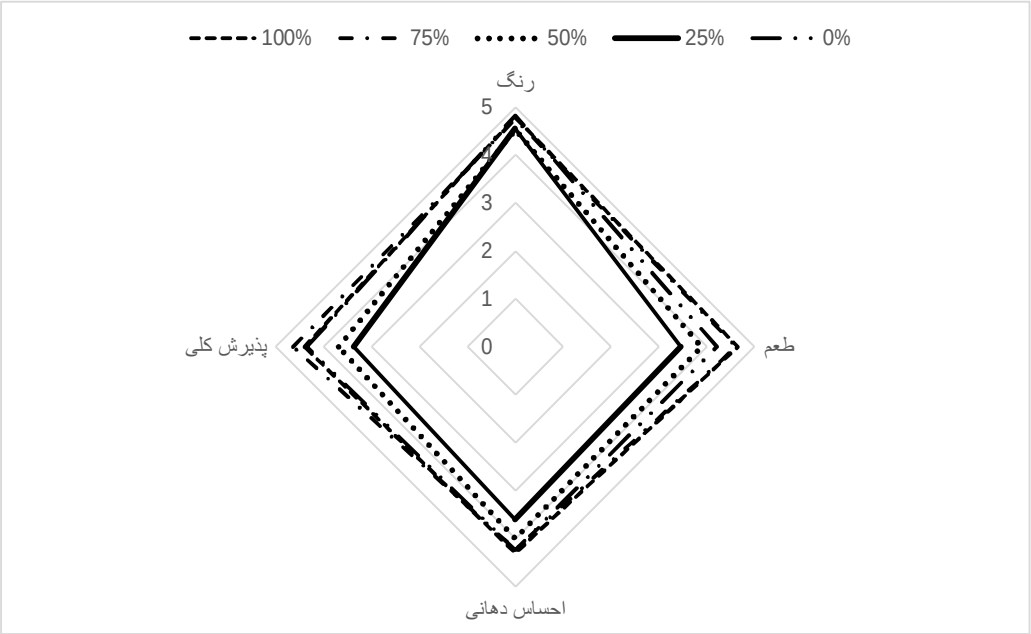
نتیجه‌گیری

هدف از این پژوهش جایگزینی ساکارز با شیره خرما در نوشیدنی مالت بود. نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی بیانگر این می‌باشد که جایگزینی ساکارز با شیره خرما در نوشیدنی مالت تأثیر نامطلوبی روی نوشیدنی مورد نظر نداشت. با توجه به نتایج ارزیابی حسی، شیره خرمای مورداستفاده در تولید نوشیدنی مالت، تأثیر نامطلوبی بر ویژگی‌های حسی محصول ندارد و می‌تواند به‌عنوان یک جایگزین طبیعی و مفید برای ساکارز به‌کار رود، در این حالت علاوه بر طعم شیرین این ماده، می‌توان از ترکیبات مفید موجود در شیره خرما نیز بهره برد. نوشیدنی مالت تهیه‌شده با 75 درصد شیره خرما درمجموع بهترین تیمار معرفی شد و می‌توان از تیمار حاوی 75 درصد شیره خرما به‌جای تیمار حاوی ساکارز استفاده نمود..

جدول 4- نتایج حاصل از ارزیابی حسی 5 نوع تیمار نوشیدنی مالت

متغیر / درصد شیره خرما	رنگ	طعم	پرکنندگی دهانی	پذیرش کلی
%100	4/787^{a}	4/650^{a}	4/300^{a}	4/4^{a}
%75	4/750^{a}	4/613^{a}	4/225^{a}	4/637^{a}
%50	4/525^{b}	3/888^{c}	4^{b}	3/688^{c}
%25	4/55^{b}	3/450^{d}	3/6^{c}	3/375^{d}
%0	4/825^{a}	4/213^{b}	4/238^{a}	4/350^{b}

در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$) بین نمونه‌ها می‌باشد



شکل 3- ارزیابی ویژگی‌های حسی نوشیدنی‌های مالت

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی به شماره 19/ا/ت استخراج گردیده. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و معاونت پژوهشی دانشکده تغذیه که با کمک‌های مالی خود این تحقیق را حمایت نمودند سپاسگزاری می‌شود، همچنین از کارخانه سرد صحرا برای ارائه امکانات موردنیاز تحقیق تشکر می‌شود. از آقای دکتر محمد اصغری جعفرآبادی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند قدردانی می‌نماییم.

منابع

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1386، آبمیوه‌ها-روش‌های آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره 2685 ، تجدید نظر اول.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران،1390، نوشیدنی مالت-روش‌های آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره 2280 ، تجدید نظر اول.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران،1390، نوشیدنی مالت-ویژگی‌ها. استاندارد ملی ایران، شماره 2279 ، تجدید نظر پنجم.

Abbès, F., Bouaziz, M.A., Blecker, C., Masmoudi, M., Attia, H. & Besbes, S, 2011, Date syrup: effect of hydrolytic enzymes (pectinase/cellulase) on physico-chemical characteristics, sensory and functional properties. LWT – *Food Science and Technology*, 44, 1827-1834.

Ahmadi, H., Azizi, M.H., Jahanian, L., & Amirkaveei, S.H, 2011, Evaluation of replacement of date liquid sugar as a replacement for invert syrup in a layer cake, Journal of Food Science and Technology, 8(1), 57-63.(in farsi)

Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M. & Shahidi, F., 2005, Compositional and sensory characteristics of three native sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7586-7591.

Baldwin, E.A., Scott, J.W., Einstein, M.A., Malundo, T.M.M., Carr, B.T., Shewfelt, R.L., *et a*l., 1998, Relationship between sensory and instrumental analysis for tomato flavor. *Journal of the American Society of Horticultural Sciences*, 123, 906–915.

Bamforth, C.W., 2002, Nutritional aspects of beer-a review. *Nutrition Research*, 22, 227-237.

Barreveld, W.H., 1993, Date Palm Products. Rome: FAO Agricultural Service Bulletin No. 101, *Food and Agricultural Organisation of the United Nations*.

Briggs, D.E., Boulton, C.A., Brookes, P.A., & Stevens, R., 2004, Brewing: Science and Practice. USA: Woodhead Publishing, Cambridge UK/CRC Press, ISBN 0-8493-2547-1.

Foulkes, P.H., 1977, Replacement of sugar in sugar-containing food and process. United State Patent; No. 4, 055, 676.

Gohari Ardabili, A., Habibi Najafi, M.B., & Haddad Khodaparast, M.H, 2005, Effect of date syrup as a substitute for

sugar on the physicochemical and sensory properties of soft ice cream, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 2(1), 23-32.(in farsi)

Hegenbart, S., 1996, Sweetener Shake-out, Weeks Publishing Company, www.foodproductdesign.com

Hosseini, E., Kaivar, M., & Shahedi, M., 2012, Physicochemical Properties and Storability of Non-alcoholic Malt Drinks Prepared from Oat and Barley Malts. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14, 173-182.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Fruit juices – Test methods. ISIRI no 2685. First revision, ISIRI; 2006. (In Farsi)

Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Malt beverage - Specifications. ISIRI no 2279. Fifth revision, ISIRI; 2011. (In Farsi)

Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Malt beverage – Test methods. ISIRI no 2280. First revision, ISIRI; 2011. (In Farsi)

Mayes, P.A., 1993, Intermediary metabolism of fructose. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 58, 754-65.

Myhara, R.M., Karkalas, J. & Taylor, M.S., 1999, the composition of maturing Omani dates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1345-1350.

Tharp, B. & Young, S., 2004, On Ice Cream: No Sugar-added Ice Cream, Technical Short Course, http://onicecream.com/qu_no_sugar_added.htm

Vandehaegan, B., Delvaux, F., Daenen, L., Verachtert, H. & Delvaux, F.R., 2007, Aging characteristics of different Beer types. *Food Chemistry*, 103, 404-412.

White, F.H., 1995, Spectrophotometric determination of malt color. *Journal of the institute of brewing*, 10, 431-433.

Yaseen, T., Ashraf I., Rehman S.U., Ali S. & Pasho I., 2013, Shelf life assessment of muffins prepared by date syrup and wheat bran. *Journal of Public Health and Biological Sciences*, 2, 156-163.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 637-646

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 646-637

Brief

Effect of sucrose substitution by date syrup on the physicochemical and sensory properties of malt beverage

F. Hajieghrary[1], A. Homayouni-Rad[2*], Z. Rahimzadeh Sani[3]

Received: 2015.11.20
Accepted: 2016.04.03

Introduction: Non-alcoholic beverages are consumed in many countries. There are many people who avoid alcohol because of their health concerns, and in Muslim countries alcoholic beverages are religiously banned. Malt beverages are classified based on the alcohol content as alcoholic (more than 1.2%), low alcoholic (0.5-1.2%) and with no alcohol (less than 0.5%). Malt beverages are generally produced by dissolving wort granulates in water, filtration, and adding pure hop aroma. The malt beverage has some health benefits such as protection against coronary heart diseases, cancers and ulcers. Malt beverages are usually produced using barley malt and in some cases from other sources such as wheat, oats, rye and sorghum. In Iran, malt beverage is prepared without fermentation and is generally produced using barley malt. Malt beverages usually sweetened with sucrose. Sucrose is often preferably replaced with other sweeteners since it is the main cause of obesity, as well as diabetes and dental cavities. There are several known intense sweeteners which provide little or no energy intake. Since intense sweeteners are amongst the most controversial food additives due to suspicions of adverse health effects only few of them are allowed to be used in food industries. On the other hand, there is a wide range of natural sweeteners, which besides providing sweetness to the product, they contain various bioactive compounds, such as vitamins, minerals or polyphenols that are known to exhibit positive health effects and contribute to the concept of functional foods. Though not widely used, several natural alternatives to sugar are available.

Date fruit from date palm (*Phoenix dactylifera*) is one of the important cultivations in Iran. The importance of the date in human nutrition comes from its rich composition of carbohydrates (70–80%), salts and minerals, dietary fiber, vitamins, fatty acids and amino acids. Date juice concentrates, are condensed products made out of date extract. They differ in appearance, taste and consistency depending on the type of the raw juice and the degree of concentration. Three main products can be distinguished as date spread, date syrup and date liquid sugar. Date syrup is the most generally derived date product. It is a high energy food rich in carbohydrate, a good source of minerals but it also contains a very complex mixture of other saccharides, amino and organic acids, carotenoids and polyphenols. Besides its nutritional compounds, it is rich in antioxidants. The components responsible for antioxidative effect are flavonoids, phenolic acid, ascorbic acid and carotenoids. Date syrup as an innovative and main by-product in date processing was used as a substitution of sucrose in non-alcoholic malt beverage. In this study, the effect of sucrose replacement with date syrup on physicochemical and organoleptic properties of malt beverage was studied within 1, 7, 14, 21, 28, 60, 90,120, 150 and 180 days during 6 months of storage.

Materials and methods: The materials including barley malt and hops pellets, sucrose and date syrup were supplied from local market. Barley malt and hops pellets were obtained from Sard Sahra Company (Tabriz, Iran). Sucrose was purchased from Khoy sugar factory (Khoy, Iran) and date syrup from Shahd Bab Pars factory (Tabriz, Iran).

For preparing malt beverages barley malts were milled using a roller mill, then steeped with hot water in a

1- Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
2- Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
3- Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
(*Corresponding Author Email: Homayounia@tbzmed.ac.ir)

mash tank. Malt extract was filtered to produce thick, sweet liquid called wort. The wort was then boiled for an hour and date syrup and sugar were added together to the boiling wort at the ratios of 0:100, 25:75, 50:50, 75:25 and 100:0. Hops pellets were also added to the extract. The wort was then chilled using heat exchanger plate to avoid fermentation and filtered. The pH and brix of extracts were adjusted to 3.8 and 6 and they were transferred into 300 ml green Polyethylene Terephthalate (PET) bottles, then were pasteurized at 70°C for 30 minutes and stored in refrigerator at 4°C for further analysis.

Malt beverages which were sweetened with ratios of 0:100, 25:75, 50:50, 75:25 and 100:0 of date syrup to sucrose, physicochemical and sensory properties were evaluated during six months of storage. The data reported are the means of triplicate observations. Analysis of the data was done by Duncan's test.

Results and discussion: According to results pH and Brix were not changed during 6 months. There was a significant difference ($p<0.05$) in reducing sugar and color between samples and control. Based on results increasing the proportion of date syrup in beverages could elevate reducing sugar. The amount of total sugar in samples with 75%, 50% and 25% date syrup showed significant difference to the sucrose containing samples ($p<0.05$). However, there was no significant difference between the sample with 100% date syrup and sucrose containing sample ($p>0.05$). According to sensory results, malt beverage with 75% date sugar exhibited the highest overall acceptability. Beverages formulated with date syrup had a desirable characteristic. So, from both the technological and sensory points of view, the malt beverage with 75% date syrup was found to be the best formula.

Keywords: Date Syrup, Malt Beverage, Organoleptic Properties, Sucrose Replacement.

Contents

Effect of skim milk powder on the quality of Yazdi cake 445
M. Pourseyed, A. Motamedzadegan, J. Mohammadzadeh Milani
Evaluation of the effect of nanofiber cellulose and carboxy methyl cellulose on rheological properties and particle size of low-fat mayonnaise 457
L. Golchoobi, M. Alimi, H. Yousefi
Effect of citrus fiber replacement to oil and egg on some physico-chemical and organoleptic properties of muffin 468
Z. Najafi, S. Movahhed, H. Ahmadi Chenarbon
Effect of microbial transglutaminase on physical, rheological, textural and sensory properties of light ice cream 479
E. Danesh, H. Jooyandeh , M. Goudarzi
Effect of sodium metabisulphite and osmo dehydrated pretreatment on physicochemical and organoleptic characteristics of vaccum dried citrus lemon (shirazi) slice 490
A. Falaki, N. Asefi
Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of head and arms of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) protein using Alcalase 502
K. Ali asgari, S. Yeganeh, S. A. Jafar pour, R. Safari
Evaluating antioxidant properties of pulp and skin of fig extracts and application in canola oil as replacing synthetic antioxidant 516
E. Maghsoudlou, R. Esmaeilzade Kenari, Z. Raftani Amiri
The effect of different solvents and ultrasound on antioxidant properties of extract of *Cornus mas* L. fruit 527
F. Gillani, Z. Raftani Amiri*, R. Esmailzadeh Kenari
An investigation on the effect of aging time on the physicochemical, rheological and textural properties of vegetable-based ice cream of soy and sesame 539
S. Ghaderi, M. Mazaheri Tehrani, S. M. A. Razavi
The application of PLS regression to study the relationships between Sensory and texture characteristics 552
H. Bagheri, M. Kashaninejad, M. Alami, A. M. Ziaiifar
Investigation of multilayer microcapsules based on electrostatic adsorption of soy protein isolated fibrils and high methoxyl pectin containing diacetyl 565
E. Ansarifar, F. Shahidi, M. Mohebbi, A. Koocheki, N. Ramazanian
Study of antimicrobial properties of *Zataria multiflora* extract and timol on durability and stability of edible mushroom *(Agaricus bisporus)* 574
M. Rastegar, S. E. Razavi, P. Ebrahimi
Effect of hydroxy propyl methyl cellulose gum on qualitative properties of free gluten baguette bread contain equal proportion of corn flour and potato flour 583
S. Movahhed, E. Kakaei, H. Ahmadi Chenarbon
Characterization of physical and antimicrobial properties of chitosan edible films containing *Pistacia atlantica* gum essence 593
V. Alizadeh, H. Barzegar, B. Nasehi, V. Samavati
Optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from black mulberry (*Morus nigra.L*) pomace 610
V. Mosayebi, Z. Emam Djomeh
Characterization of functional properties of starch based nanobiocomposite films containing montmorillonite and titanium dioxide 626
S. A. Oleyaei, B. Ghanbarzadeh, A. A. Moayedi, P. Poursani, S. F. Mousavi Baygi, M. R. BakhshAmin
Effect of Thermo-sonication on Quality Properties of Barberry (*Berberis vulgaris*) Juice 636
M. Farhadi Chitgar, M. Aalami, E. Milani, Y. Maghsoudlo

Brief

Effect of sucrose substitution by date syrup on the physicochemical and sensory properties of malt beverage 646
F. Hajieghrary, A. Homayouni-Rad, Z. Rahimzadeh Sani

Iranian Food Science and Technology Research Journal

Vol. 13 No. 4 2017

Published by: Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Executive Manager: Poorazarang, H.

Editor-in-Chief: Razavi, Seyed M. A.

Executive Director: Taghizadeh, M.

Editorial Board:

Ehsani, M.R.	Prof. in Dairy Technology
Farahnaki, A.	Assoc. Prof. in Food Engineering
Farhoosh, R.	Prof. in Food Chemistry
Fazli Bazzaz, S.	Prof. in Microbiology
Habibi najafi, M.	Prof. in Microbiology
Kadivar, M.	Assoc. Prof. in Food Chemistry
Kashaninejad, M.	Assoc. Prof. in Food Engineering
Khomeiri, M.	Assoc. Prof. in Microbiology
Khosroshahi, A.	Prof. in Dairy Technology
Mortazavi, Seyed A.	Prof. in Microbiology and Biotechnology
Pourazerang, H.	Prof. in Food Chemistry
Razavi, Seyed M. A.	Prof. in Food Engineering
Sahari, M. A	Prof. in Food Chemistry
Sedaghat, N.	Assoc. Prof. in Food Packaging
Shahidi, F.	Prof. in Microbiology
Varidi, M.J.	Assoc. Prof. in Food technology

Printed by: Ferdowsi University of Mashhad Press, Iran.

Address: The Iranian Food Science & Technology Research Journal, Scientific Publication Office, Food Science and Technology Department, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

P.O.BOX: 91775- 1163

Phone: (98)511-8795618-20(321)

Fax: (98)511-8787430

E-Mail: ifstrj@um.ac.ir

Web Site: http://jm.um.ac.ir/index.php/food_tech/index

This journal is indexed in ISC, SID, and MAGIRAN.

Ferdowsi University of Mashhad

Vol.13 No.4

2017

Iranian Food Science and Technology Research Journal

Iranian food science and technology Association

ISSN:1735-4161

نشریه علمی - پژوهشی پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران جلد ۱۳ شماره ۴ سال ۱۳۹۶ 2017 No.4 Vol.13 Iranian Food Science and Technology Research Journal

Contents

Effect of skim milk powder on the quality of Yazdi cake 445
M. Pourseyed, A. Motamedzadegan, J. Mohammadzadeh Milani

Evaluation of the effect of nanofiber cellulose and carboxy methyl cellulose on rheological properties and particle size of low-fat mayonnaise 457
L. Golchoobi, M. Alimi, H. Yousefi

Effect of citrus fiber replacement to oil and egg on some physico-chemical and organoleptic properties of muffin 468
Z. Najafi, S. Movahhed, H. Ahmadi Chenarbon

Effect of microbial transglutaminase on physical, rheological, textural and sensory properties of light ice cream 479
E. Danesh, H. Jooyandeh , M. Goudarzi

Effect of sodium metabisulphite and osmo dehydrated pretreatment on physicochemical and organoleptic characteristics of vaccum dried citrus lemon (shirazi) slice 490
A. Falaki, N. Asefi

Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of head and arms of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) protein using Alcalase 502
K. Ali asgari, S. Yeganeh, S. A. Jafar pour, R. Safari

Evaluating antioxidant properties of pulp and skin of fig extracts and application in canola oil as replacing synthetic antioxidant 516
E. Maghsoudlou, R. Esmaeilzade Kenari, Z. Raftani Amiri

The effect of different solvents and ultrasound on antioxidant properties of extract of *Cornus mas* L. fruit 527
F. Gillani, Z. Raftani Amiri*, R. Esmailzadeh Kenari

An investigation on the effect of aging time on the physicochemical, rheological and textural properties of vegetable-based ice cream of soy and sesame 539
S. Ghaderi, M. Mazaheri Tehrani, S. M. A. Razavi

The application of PLS regression to study the relationships between Sensory and texture characteristics 552
H. Bagheri, M. Kashaninejad, M. Alami, A. M. Ziaiifar

Investigation of multilayer microcapsules based on electrostatic adsorption of soy protein isolated fibrils and high methoxyl pectin containing diacetyl 565
E. Ansarifar, F. Shahidi, M. Mohebbi, A. Koocheki, N. Ramazanian

Continue Content in cover