

عنوان مقالات

- ۱..... کاربرد رس سپولیت ایرانی در شفاف‌سازی آب‌سیب: تغییرات خصوصیات کیفی طی فرایند
مرضیه میرزاآقایی - سید امیر حسین گلی - میلاد فتحی
- ۱۷..... مدل‌سازی برخی از خصوصیات شیمیایی روغن سیاه‌دانه تحت تاثیر پیش‌تیمار مایکروویو و سرعت دورانی پرس مارپیچی
حمید بخش آبادی - حبیب‌الله میرزایی - علیرضا قدس‌ولی - سید مهدی جعفری - امان محمد ضیایی‌فر
- ۲۷..... بررسی اثر افزودن نانو رس بر خواص فیلم دولایه آگار/ژلاتین ماهی حاوی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم
سید مهدی اجاق - اکبر وجدان - مهدی عبدالمهدی
- ۳۹..... تهیه ایزوله پروتئین لوبیا عروس و تعیین برخی خصوصیات عملکردی آن
سروناز اوصیا - زینب رفتنی امیری
- ۴۸..... ارزیابی ماندگاری گوجه‌فرنگی پرتودیده در ترکیب با پوشش پلی‌اتیلن به کمک تکنیک آکوستیک
حسینعلی تاش شمس‌آبادی - سیده هدی یوسفیان - آیت محمد رزداری
- ۵۹..... اثر روش‌های استخراج بر میزان ترکیبات فنولیک و خصوصیات ضد میکروبی عصاره برگ گیاه اناریجه (*Pimpinella affinis*)
الهام شکوه صارمی - محمدباقر حبیبی نجفی - محمد حسین حدادخداپرست - معصومه بحرینی
- ۶۹..... مقایسه روش‌های آنزیمی، اهمی و متداول بر بازده و ویژگی‌های کیفی پکتین استخراجی از ضایعات پرتقال
حامد صابریان - زهره حمیدی اصفهانی - حسن احمدی گاولیقی - محسن برزگر
- ۸۱..... بررسی ترکیبات فعال زیستی آب آلبالو تلخه (*White mahaleb L.*)
فیروزه بذرافکن - سهیلا زرین‌قلمی - علی گنجلو
- ۹۳..... به‌کارگیری لاکتوباسیلوس روتتری در تهیه نان پروبیوتیک بخش: ارزیابی فرآیند ریزپوشانی دولایه لاکتوباسیلوس روتتری به روش بسترشناور بر مقاومت حرارتی
لیلا زاغری - علیرضا بصیری - سمیه رحیمی - علی زنونزی
- ۱۰۷..... تاثیر افزودن هیدروکلئید زانتان در پوشش میگوی سوخاری وانامی (*Litopenaeus vannamei*) بر جذب روغن، شاخص‌های کیفیت غذایی و خصوصیات حسی
بتول عطار - سیده زهرا سیدالنگی - سارا جرجانی
- ۱۱۹..... اثر فرآیند تغلیظ بر خصوصیات رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی آلبیمو
علی معتمدزادگان - الهه امیدبخش امیری - محبوبه جمشیدی - تندیس خسروی‌راد
- ۱۳۲..... اثر فیلم بسته‌بندی نانو کامپوزیتی حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر خصوصیات حسی، میکروبی و شیمیایی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال
زینب نوری هاشم‌آباد - بهاره شعبانپور - حامد عزیزی - سید مهدی اجاق - علیرضا عالیشاهی
- ادامه فهرست داخل جلد

نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران

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

فروردین - اردیبهشت 1397

شماره 1

جلد 14

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

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر ناصر شاهنوشی

سر دبیر: دکتر سید محمد علی رضوی

کارشناس امور اجرایی: دکتر مسعود تقی زاده

اعضای هیات تحریریه:

استاد، اقتصاد کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
استادیار، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر محمدرضا احسانی

دکتر هاشم پورآذرنگ

دکتر محمداقبر حبیبی نجفی

دکتر اصغر خسروشاهی

دکتر مرتضی خمیری

دکتر سید محمد علی رضوی

دکتر محمد علی سحری

دکتر فخری شهیدی

دکتر ناصر صداقت

دکتر عسگر فرحناکی

دکتر رضا فرهوش

دکتر بی بی صدیقه فضلی بزاز

دکتر مهدی کاشانی نژاد

دکتر مهدی کدیور

دکتر سید علی مرتضوی

دکتر محمدجواد وریدی

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

دانشیار، شیمی مواد غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان

استاد، میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

دانشیار، تکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

قیمت: 5000 ریال (دانشجویان 2500 ریال)

ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

شمارگان: 250 نسخه

نشانی: مشهد - کد پستی 91775 صندوق پستی 1163

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

تلفن: 20-8795618 داخلی 321 نمابر: 8787430

این نشریه در پایگاههای زیر نمایه شده است:

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

پست الکترونیکی: ifstrj@um.ac.ir

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

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

مندرجات

- 1 کاربرد رس سیپولیت ایرانی در شفاف‌سازی آب‌سیب: تغییرات خصوصیات کیفی طی فرایند
مرضیه میرزاآقایی - سید امیر حسین گلی - میلاد فتحی
- 17 مدل‌سازی برخی از خصوصیات شیمیایی روغن سیاهدانه تحت تاثیر پیش‌تیمار مایکروویو و سرعت دورانی پرس مارپیچی
حمید بخش آبادی - حبیب‌الله میرزایی - علیرضا قدس‌ولی - سید مهدی جعفری - امان محمد ضیایی فر
- 27 بررسی اثر افزودن نانو رس بر خواص فیلم دولایه آگار/ژلاتین ماهی حاوی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم
سید مهدی اجاق - اکبر وجدان - مهدی عبدالمهدی
- 39 تهیه ایزوله پروتئین لوبیا عروس و تعیین برخی خصوصیات عملکردی آن
سروناز اوصیا - زینب رفتنی امیری
- 48 ارزیابی ماندگاری گوجه‌فرنگی پرتودیده در ترکیب با پوشش پلی‌اتیلن به کمک تکنیک آکوستیک
حسینعلی تاش شمس‌آبادی - سیده هدی یوسفیان - آیت محمد رزرداری
- 59 اثر روش‌های استخراج بر میزان ترکیبات فنولیک و خصوصیات ضد میکروبی عصاره برگ گیاه اناریجه (*Pimpinella affinis*)
الهام شکوه صارمی - محمدباقر حبیبی نجفی - محمد حسین حدادخداپرست - معصومه بحرینی
- 69 مقایسه روش‌های آنزیمی، اهمی و متداول بر بازده و ویژگی‌های کیفی پکتین استخراجی از ضایعات پرتقال
حامد صابریان - زهره حمیدی اصفهانی - حسن احمدی گاولیقی - محسن برزگر
- 81 بررسی ترکیبات فعال زیستی آب آلبالو تلخه (*White mahaleb L.*)
فیروزه بذرافکن - سهیلا زرین‌قلبی - علی گنج‌لو
- 93 به‌کارگیری لاکتوباسیلوس روتتری در تهیه نان پروبیوتیک بخش: ارزیابی فرآیند ریزپوشانی دولایه لاکتوباسیلوس روتتری به روش
بسترشاور بر مقاومت حرارتی
لیلا زاغری - علیرضا بصیری - سمیه رحیمی - علی زنونزی
- 107 تاثیر افزودن هیدروکلونید زانتان در پوشش میگوی سوخاری وانامی (*Litopenaeus vannamei*) بر جذب روغن، شاخص‌های
کیفیت غذایی و خصوصیات حسی
بتول عطار - سیده زهرا سیدالنگی - سارا جرجانی
- 119 اثر فرآیند تغلیظ بر خصوصیات رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی آلبیمو
علی معتمدزادگان - الهه امیدبخش امیری - محبوبه جمشیدی - تندیس خسروی‌راد
- 132 اثر فیلم بسته‌بندی نانو کامپوزیتی حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر خصوصیات حسی، میکروبی و شیمیایی قزل‌آلای رنگین کمان
(*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال
زینب نوری هاشم‌آباد - بهاره شعبانپور - حامد عزیزی - سید مهدی اجاق - علیرضا عالیشاهی
- 145 بررسی امکان تولید رنگ کارامل از دو منبع انگور و خرما و ریزپوشانی آن به روش خشک‌کن انجمادی
الناز قائم‌فر - محمودرضا جعتی

- 162 بررسی پروفیل اسیدچرب روغن، خواص عملکردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین حاصله از آبکافت آنزیمی اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از آنزیم‌های پروتامکس و نئوتراز
سهیل ریحانی‌پول - سید علی جعفرپور - رضا صفری
- 177 ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ترکیبات زیست فعال میوه خرما (*Phoenix dactylifera*) دو رقم «پیارم» و «زاهدی»
سعیده زربخش - سمیه رستگار
- 187 شناسایی مولکولی و تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک و بررسی فیلوژنتیکی لاکتوباسیلوس پلانتاروم در نمونه‌های خمیر ترش صنعتی و سنتی
الهام اسحاق‌آبادی - فرح‌الله شهریاری - محمدرضا نصیری - محمد رضا عدالتیان دوم - امین میرشمسی کاخگی
- 195 بررسی اثر روش‌های مختلف نگهداری بر خصوصیات کتبی و کیفی سیب‌زمینی
جعفر نباتی - فرشاد ایزدی - رضا عباسی - فرشید حسینی
- 207 اثر افزودن فیبرهای خوراکی گندم و جودوسر بر کیفیت و جلوگیری از تغییر شکل میگوی تقلیدی حین فرآیند سرخ کردن عمیق
سکینه حیدری - بهاره شعبانپور - پرستو پورعاشوری

کاربرد رس سیپولیت ایرانی در شفاف‌سازی آب‌سیب: تغییرات خصوصیات کیفی طی فرایند

مرضیه میرزاآقایی¹ - سید امیر حسین گلی^{2*} - میلاد فتحی²

تاریخ دریافت: 1394/10/27

تاریخ پذیرش: 1395/02/04

چکیده

در این تحقیق برای اولین بار، عملکرد رس سیپولیت فعال شده با اسید در شفاف‌سازی آب‌سیب مورد بررسی قرار گرفت. از روش آماری سطح پاسخ جهت یافتن شرایط بهینه فرایند شفاف‌سازی استفاده شد و میزان کدورت آب‌سیب به‌عنوان پاسخ در نظر گرفته شد. سپس در شرایط بهینه، کارایی سیپولیت، بنتونیت و ترکیب این عوامل شفاف‌کننده با ژلاتین و کیزل‌ژل جهت شفاف‌سازی آب‌سیب مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت رس سیپولیت از 0/1 به 0/05 درصد وزنی/حجمی، سبب افزایش کدورت آب‌سیب شد. در دو دمای 50 و 60 درجه سانتی‌گراد، بیشترین میزان کاهش کدورت مشاهده شد و با افزایش زمان فرایند تا 7 ساعت، میزان کدورت به‌صورت منحنی درجه دوم کاهش یافت. شرایط بهینه شفاف‌سازی، غلظت رس 0/05 درصد، دمای 50 درجه سانتی‌گراد و زمان 7 ساعت بدست آمد. نتایج نشان داد که دو تیمار ترکیب سیپولیت - ژلاتین - کیزل‌ژل و بنتونیت - ژلاتین - کیزل‌ژل فعال‌ترین عوامل شفاف‌کننده هستند و قادرند کدورت آب‌سیب را به میزان 99/7 درصد کاهش دهند. مطالعات کینتیکی نشان داد که سرعت تغییرات در کدورت، ویسکوزیته، میزان ترکیبات فنولیک کل و رنگ طی زمان شفاف‌سازی به ترتیب از مدل‌های کینتیکی درجه یک، صفر، یک و صفر تبعیت می‌کنند.

واژه‌های کلیدی: آب‌سیب، بنتونیت، سیپولیت، شفاف‌سازی، فعال‌سازی، کینتیک

مقدمه

کدورت، طعم و رنگ نامطلوب در آب‌میوه طی نگهداری شوند (Mirsaeedghazi *et al.*, 2010; Onsekizoglu, 2013; Vardin *et al.*, 2003) بنابراین کاهش میزان این ترکیبات در آب‌سیب جهت بهبود ظاهر و افزایش بازارپسندی و مقبولیت محصول ضروری است (Gökmen *et al.*, 2002; Ceci *et al.*, 1998). شفاف‌سازی یک مرحله مهم در فرایند تولید تجاری آب‌میوه است که ترکیبات پکتیکی، پلی‌فنول‌ها و سایر مواد نامطلوب موجود در آب‌میوه را حذف می‌کند و بنابراین از تشکیل کدورت در محصول طی مدت زمان انبارداری جلوگیری می‌نماید (Tastan *et al.*, 2015; Chatterjee *et al.*, 2004). مواد پکتیکی می‌توانند با استفاده از روش شفاف‌سازی آنزیمی (پکتین‌زدایی) از آب‌سیب حذف گردند. آنزیم پکتیناز می‌تواند پکتین را هیدرولیز نموده و کمپلکس‌های پکتین - پروتئین تولید کند که به‌راحتی در محصول ته‌نشین می‌شوند. در مرحله پکتین‌زدایی می‌توان با افزودن آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته مانند آمیلاز و آمیلوگلوکوزیداز نشاسته موجود در آب‌سیب را نیز هیدرولیز نمود (Gökmen *et al.*, 2007; Tajchakavit *et al.*, 2001). در صنعت آب‌میوه جهت شفاف‌سازی از عوامل

امروزه پس از آب، مصرف آب‌میوه از جایگاه ویژه‌ای در بین جوامع برخوردار است. آب‌میوه‌ها به دلیل دارا بودن مقادیر زیادی از ویتامین‌ها، املاح و ترکیبات فنولیک به‌عنوان یکی از منابع تغذیه‌ای غنی شناخته می‌شوند. آب‌میوه ممکن است به دو صورت کدر و یا شفاف تولید گردد که معمولاً آب‌میوه‌هایی همچون آب سیب، انار، انگور، گیلاس، آناناس، هویج و ... به‌صورت شفاف به بازار عرضه می‌شوند. آب‌سیب تازه از نظر طعم، رنگ و بو ناپایدار است. مواد پکتیکی و ترکیبات فنولیک مسئول ایجاد این تغییرات فیزیکی‌وشیمیایی طی فرایند تغلیظ و تهیه کنسانتره و همچنین نگهداری آب‌سیب هستند، این ترکیبات می‌توانند از طریق پلیمریزاسیون اولیه و تجمع یافتن که منجر به تشکیل کمپلکس‌های پلیمری بین قندها، پلی‌ساکاریدها، یون‌های فلزی و پروتئین‌ها می‌شود، موجب ایجاد

1 و 2- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

(* - نویسنده مسئول: Email: amirgoli@cc.iut.ac.ir)

بلوم⁴ (100-80)، بنتونیت و آنزیم‌های آمیلاز و پکتیناز از کارخانه بهنوش ایران واقع در شهرکرد تهیه شد. نمونه سپیولیت از شرکت دانش‌بنیان فراپویان ایساتیس یزد واقع در استان یزد خریداری شد. کیزل ژل و سایر مواد و محلول‌های شیمیایی از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

جدول 1- برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب‌سیب مورد استفاده

مقدار	پارامتر
3/85 ± 0	pH
1646 ± 8	کدورت (NTU)
	رنگ
2/98 ± 0	پارامتر L*
1/11 ± 0	پارامتر a*
4/12 ± 0	پارامتر b*
3/1 ± 0/032	ویسکوزیته (cp)
	میزان کل ترکیبات فنولیک
44/38 ± 0/97	(میلی‌گرم اسید گالیک به ازای 100 میلی‌لیتر آب میوه)

فعال‌سازی اسیدی سپیولیت

جهت فعال‌سازی اسیدی سپیولیت از روش Balci (1999) با تغییرات جزئی استفاده شد. 200 گرم از رس سپیولیت با 2000 میلی‌لیتر از اسید کلریدریک 1/5 مولار مخلوط شد (نسبت رس به اسید 1 به 10 بود) و این مخلوط به مدت 4 ساعت در دمای 75 درجه‌سانتی‌گراد توسط آنکوباتور شیکردار با دور 210 rpm هم‌زده شد. پس از این مرحله، اسید توسط سانتریفوژ با دور 4100 rpm و به مدت 15 دقیقه از سپیولیت جدا گردید. سپیولیت فعال شده چندین مرتبه با حجم‌های زیادی از آب مقطر شست‌وشو داده شد تا بقایای اسید از رس خارج شود. رس به مدت 6 ساعت در آن با دمای 110 درجه‌سانتی‌گراد خشک شد. پس از این مدت، نمونه با آسیاب خرد گردید و از الک با مش 235 (61/75 میکرومتر) عبور داده شد.

آنالیز سپیولیت طبیعی و فعال شده

pH، اسیدیته، دانسیته و میزان رطوبت رس سپیولیت، مطابق با روش Sabah و Çelik (2005) اندازه‌گیری شد. سطح ویژه به روش BET توسط دستگاه Belsorp mini II (BelJapan، ژاپن) اندازه‌گیری شد. در این آزمایش از روش جذب و واجذب نیتروژن توسط سطح ماده در دمای ثابت نیتروژن مایع (77 درجه کلوین) استفاده شد (Ünal et al., 1998). عناصر سازنده رس قبل و بعد از فعال‌سازی به روش XRF به‌وسیله دستگاه XRF (فیلیپس،

شفاف‌کننده‌ای مانند بنتونیت¹، ژلاتین، کربن‌فعال، سیلیکاسل² و یا ترکیبی از این عوامل استفاده می‌شود (Tastan et al., 2015; Chatterjee et al., 2004). گسترده‌ترین ماده جاذب مورد استفاده جهت شفاف‌سازی آب میوه بنتونیت می‌باشد، زیرا دارای قدرت جذب زیاد و قیمت نسبتاً کمی است. Gao و همکاران (1997) و Tajchakavit و همکاران (2001) گزارش کردند که کدورت آب‌سیب به ترتیب با استفاده از بنتونیت و ترکیب بنتونیت و ژلاتین به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. Lee و همکاران (2007) از بنتونیت و ترکیب ژلاتین و بنتونیت برای شفاف‌سازی آب‌موز استفاده کردند. نتایج تحقیق آن‌ها کاهش معنی‌داری (p<0.001) در کدورت آب‌موز نشان داد.

سپیولیت³ یک رس طبیعی فیروز با فرمول کلی $Mg_8Si_{12}O_{30}(OH)_4(OH_2)_4.nH_2O$ (n=6-8) (Miura et al., 2012; Sabah et al., 2002) است. معادن این رس برای اولین بار در ایران در سال 1389 کشف و مورد استخراج قرار گرفته است. این رس به دلیل خصوصیات ساختاری و مورفولوژیکی خود دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاصی مانند تخلخل، سطح ویژه و قابلیت جذب بالایی است (Alan et al., 2014; Suárez et al., 2012). به نظر می‌رسد که رس سپیولیت به دلیل سطح فعال زیاد و ساختار نسبتاً مشابه با بنتونیت، بتواند به‌عنوان یک عامل جاذب در شفاف‌سازی آب‌میوه مورد استفاده قرار گیرد. در سال‌های اخیر کاربرد سپیولیت در صنایع غذایی جهت رنگبری شربت چغندر قند، حذف فسفر از روغن گیاهی و افزایش راندمان رنگبری روغن پالم خام گزارش شده است (Ünal et al., 1998; Sabah et al., 2009; Tian et al., 2014).

در این تحقیق برای اولین بار، از سپیولیت جهت شفاف‌سازی آب‌سیب استفاده شده است. در ابتدا از روش آماری سطح پاسخ برای بهینه‌سازی شرایط فرایند شفاف‌سازی، استفاده شد. سپس قابلیت شفاف‌سازی سپیولیت با سایر عوامل شفاف‌کننده مورد استفاده در صنعت، مقایسه شد و در نهایت سه مدل کینتیکی درجه صفر، یک و دو برای بیان نحوه تغییرات کدورت، رنگ، ویسکوزیته و میزان ترکیبات فنولیک کل موجود در آب‌سیب طی فرایند شفاف‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

آب سیب پاستوریزه شده و شفاف‌نشده (جدول 1)، ژلاتین (با عدد

1 Bentonite

2 Silica sol

3 Sepiolite

4 Bloom

جهت انجام فرایند شفاف‌سازی ابتدا یک شفاف‌سازی آزمایشی انجام شد. بدین منظور 25 میکرولیتر از هر یک از آنزیم‌های پکتیناز و آمیلاز به 100 میلی‌لیتر آب‌سیب اضافه شدند. پس از هم زدن، آب‌سیب درون انکوباتور 55 درجه‌سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار گرفت. پس از آن، سیپولیت فعال شده مخلوط شد و آب‌سیب بر حسب هریک از تیمارهای RSM در دما و زمان مشخص مطابق با جدول 2 درون انکوباتور قرار گرفت. در نهایت سیپولیت توسط سانتریفوژ با دور 12000rpm و به مدت 5 دقیقه از آب‌سیب جدا شد و کدورت آب‌سیب شفاف‌شده به وسیله دستگاه کدورت‌سنج (مارتینی، Mi 415، رومانی) اندازه‌گیری شد.

شفاف‌سازی آب‌سیب

شرایط بهینه فرایند شفاف‌سازی با استفاده از روش RSM به دست آمد. جهت شفاف‌سازی ابتدا 25 میکرولیتر از هر یک از آنزیم‌های پکتیناز و آمیلاز به 100 میلی‌لیتر آب‌سیب اضافه شد. پس از هم‌زدن درون انکوباتور 55 درجه‌سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. سپس شفاف‌سازی در شرایط بهینه تعیین شده انجام شد. در پایان، آب‌میوه با دور 12000 دور در دقیقه و دمای 25 درجه‌سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه سانتریفوژ شد تا رس و عوامل کدورت‌زا از آن جدا شوند.

مقایسه قابلیت شفاف‌سازی سیپولیت با سایر عوامل شفاف‌کننده

به منظور مقایسه راندمان شفاف‌سازی سیپولیت با سایر عوامل شفاف‌کننده مورد استفاده در صنعت، فرایند شفاف‌سازی با استفاده از سیپولیت فعال شده (S)، بنتونیت (B) و ترکیب این عوامل با ژلاتین (G) و کیزل ژل (K) (یعنی تیمارهای S+G، B+G، S+G+K و B+G+K) در شرایط بهینه به دست آمده، انجام شد. غلظت بنتونیت، ژلاتین و کیزل ژل مصرفی در این مرحله به ترتیب 0/05، 0/015 و 0/04٪ وزنی - حجمی بود (Türkilmez et al., 2012).

الف) آنالیزهای فیزیکی و شیمیایی

- کدورت و ویسکوزیته: کدورت آب‌سیب با استفاده از دستگاه کدورت‌سنج اندازه‌گیری شد و بر حسب واحد NTU گزارش گردید (Rinaldi et al., 2013). ویسکومتر موئینه (فیشر، آمریکا) برای اندازه‌گیری میزان ویسکوزیته در دمای 20 درجه سانتی‌گراد بر حسب سانتی‌پویز (cp) به کار برده شد (Turfan et al., 2012).

- رنگ: از دستگاه رنگ‌سنج (Nippon DENSHOKU، ZE، 6000، ژاپن) مطابق با استاندارد CIELab جهت اندازه‌گیری رنگ استفاده شد. پارامترهای L^* ، a^* و b^* برای توصیف رنگ نمونه‌ها

آماده‌سازی عوامل شفاف‌کننده جهت شفاف‌سازی

توانایی شفاف‌سازی عوامل شفاف‌کننده با قابلیت تورم آن‌ها در آب، افزایش می‌یابد (Koyuncu et al., 2007). برای این منظور از روش Türkyilmaz و همکاران (2012) با تغییرات جزئی استفاده شد.

- سیپولیت و بنتونیت: 10 گرم از هر یک از پودر رس‌های بنتونیت و سیپولیت با 100 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و در دمای اتاق به مدت 6 ساعت قرار داده شد. پس از این زمان، رس سانتریفوژ شد و آب از رس جدا گردید. رس هیدراته شده تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد.

به منظور مقایسه قابلیت شفاف‌سازی سیپولیت با سایر عوامل شفاف‌کننده، ژلاتین و کیزل ژل¹ قبل از مصرف به روش ذیل آماده‌سازی شدند:

- ژلاتین: 2 گرم از پودر ژلاتین در 100 میلی‌لیتر آب گرم 80-70 درجه سانتی‌گراد حل شد. محلول ژلاتین باید 4-5 ساعت قبل از مصرف، تهیه شود.

- کیزل ژل: 15 گرم از کیزل ژل با 100 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و بلافاصله سانتریفوژ گردید و آب از کیزل ژل هیدراته (کیزل سل) جدا شد. کیزل سل تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد.

بهینه‌سازی شرایط فرایند شفاف‌سازی

از روش آماری سطح پاسخ² جهت بهینه‌سازی شرایط فرایند شفاف‌سازی با سیپولیت فعال شده استفاده شد. فاکتورهای مستقل مورد استفاده در سه سطح شامل موارد زیر بودند: غلظت رس سیپولیت در دامنه 0/05-0/1 درصد، دمای فرایند در دامنه 50-60 درجه سانتی‌گراد و زمان در دامنه 2-10 ساعت. کدورت آب‌سیب به عنوان فاکتور وابسته یا پاسخ در نظر گرفته شد. معادله کلی مورد استفاده در RSM به صورت معادله 1 می‌باشد.

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (1)$$

در این معادلات y پاسخ پیش‌بینی شده، β_0 ضریب ثابت، β_1 و β_2 و β_3 ضریب رگرسیون برای جملات خطی، β_{11} ، β_{22} و β_{33} ضریب رگرسیون برای جملات مربع یا درجه دوم، β_{12} و β_{13} و β_{23} ضریب رگرسیون برای جملات دارای اثر متقابل است.

1 Kieselgelgel

2 Response Surface Methodology (RSM)

فواصل زمانی یک ساعته انجام شد و پس از سانتریفوژ کردن نمونه، آنالیز مورد نظر بر روی آن انجام گرفت و نتایج ثبت گردید. سرعت تغییرات به وسیله مدل‌های کینتیکی درجه صفر، یک و دو نشان داده شده در زیر، مدل‌سازی شد.

$$A=A_0 \pm kt \quad (2)$$

$$A=A_0 \times \exp(\pm kt) \quad (3)$$

$$1/A=1/A_0 \pm (kt) \quad (4)$$

در این روابط A_0 مقدار اولیه یا مقدار در زمان صفر پارامتر مورد نظر، A مقدار پارامتر در زمان مورد نظر، t زمان مورد نظر و K ثابت سرعت واکنش (که در حقیقت میزان وابستگی یا سرعت فرایند نسبت به زمان را نشان می‌دهد)، است.

استفاده شدند. L^* میزان روشنایی، a^* و $-a^*$ میزان قرمزی و سبزی و b^* و $-b^*$ میزان زردی و آبی بودن نمونه‌ها را نشان می‌دهد (Onsekizoglu, 2013).

- میزان ترکیبات فنولیک کل: میزان این ترکیبات با استفاده از معرف فولین - سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu) و بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در صد میلی‌لیتر آبسیب اندازه‌گیری گردید (Pinelo *et al.*, 2012).

ب) بررسی کینتیک تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک کل و رنگ

نحوه تغییرات کدورت، ویسکوزیته، رنگ و مقدار ترکیبات فنولیک کل طی زمان شفاف‌سازی بررسی شد، بدین منظور نمونه‌گیری در

جدول 2- تیمارهای انتخابی مطابق با طرح دی‌اِپتیمال برای شفاف‌سازی آبسیب و مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده کدورت

تیمار	غلظت رس (%)	دما (°C)	زمان (h)	کدورت آبسیب ¹ واقعی	پیش‌بینی شده
1	0/05	53/59	2	32/5	33/43
2	0/05	50	10	14/04	14/86
3	0/05	50	10	15/24	14/86
4	0/05	60	7/16	15/02	14/44
5	0/05	60	2	25/10	24/71
6	0/06	50	2	25/75	25/70
7	0/07	50	5/22	13/02	11/58
8	0/07	55/97	10	27/64	26/93
9	0/07	56/25	5/07	20/28	20/33
10	0/08	53/75	2	33/69	33/79
11	0/08	60	2	21/95	21/56
12	0/08	60	2	21/66	21/56
13	0/08	60	7/42	8/40	10/90
14	0/1	50	2	29/96	30/28
15	0/1	50	2	30/28	30/28
16	0/1	50	10	17/53	17/56
17	0/1	50	10	17/12	17/56
18	0/1	55/95	5/25	21/06	20/74
19	0/1	60	10	19/53	18/02
20	0/1	60	10	17/34	18/02

¹Nephelometric Turbidity Unit

تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان 95 درصد استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها، بررسی مدل‌های کینتیکی و یافتن پارامترهای مدل توسط روش رگرسیون غیر خطی با کمک نرم‌افزار SPSS (version 20) انجام گرفت. هر آنالیز با سه تکرار انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت انجام RSM، از نرم‌افزار آماری دیزاین‌اکسپرت (version 7) به منظور تجزیه واریانس، مدل‌سازی، رسم نمودارها و تعیین شرایط بهینه در قالب طرح دی-اِپتیمال برای تولید آبمیوه شفاف با کمترین میزان کدورت، استفاده گردید. به منظور مقایسه میانگین

نتایج و بحث

جدول 3 خصوصیات سیپولیت طبیعی و فعال شده با اسید را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌گردد، سیپولیت پس از فعال‌سازی با اسید دارای افت وزنی، دانسیته ظاهری و pH کمتری نسبت به سیپولیت خنثی است، اما در مقابل رطوبت آزاد و اسیدیته بیشتری دارد. pH سیپولیت از 9/20 به 7/60 کاهش یافته که علت آن استفاده از اسید در فعال‌سازی بوده است. Sabah و Çelik (2005)، pH سیپولیت اسیدی را 5/8 و اسیدیته آن را 0/11% گزارش کرده‌اند. با

کاربرد اسید و خروج یون منیزیم از ساختار رس، حجم و تخلخل سیپولیت به دلیل باز شدن منافذ، زیاد شده و در نتیجه دانسیته آن کاهش می‌یابد. رطوبت آزاد در سیپولیت اسیدی 6/84% و در نوع خنثی 4/85% به دست آمده است. به دلیل افزایش سطح ویژه توسط فعال‌سازی اسیدی، رطوبت آزاد سیپولیت فعال شده بیشتر از نوع خنثی است. به کمک فعال‌سازی اسیدی سطح ویژه رس از 105 به 178 m²/g افزایش یافته که این افزایش به دلیل باز شدن کانال‌ها و حفره‌های داخلی و خروج برخی از یون‌ها از ساختار رس توسط فعال‌سازی با اسید است.

جدول 3- خصوصیات سیپولیت طبیعی و فعال شده

سیپولیت فعال شده	سیپولیت خنثی	آنالیز
323	364	دانسیته توده ای ظاهری (گرم بر لیتر)
6/84	4/85	رطوبت آزاد (2 ساعت در 110 °C) (%)
12/73	15/72	افت وزنی (خشک شده به مدت 2 ساعت در دمای 1000 °C) (%)
7/60	9/20	pH (سوسپانسیون 10%)
0/11	0/08	اسیدیته (%)
178	105	سطح ویژه کل (BET) (m ² /g)
0/3643	0/202	حجم کلی منافذ (cm ³ /g)
		ترکیبات شیمیایی (درصد وزنی)
51/66	45/45	SiO ₂
0/15	0/41	Al ₂ O ₃
0/08	0/12	Fe ₂ O ₃
23/45	19/27	CaO
0/02	0/05	Na ₂ O
0/03	0/02	K ₂ O
10/45	18/75	MgO
0/002	0/003	TiO ₂
0/002	0/002	MnO
0/018	0/012	P ₂ O ₅
0/25	0/002	S

بیان کردند که تیمار اسیدی سبب خروج یون Mg²⁺ از ساختار رس سیپولیت می‌شود.

برازش مدل

مدل چندجمله‌ای درجه دوم که دارای خطای عدم برازش غیرقابل توجه و R² زیاد (0/9845) بود، توسط نرم‌افزار به عنوان بهترین مدل برای توصیف شرایط بهینه فرایند شفاف‌سازی پیشنهاد گردید. جدول 4 تجزیه واریانس داده‌ها را برای مدل پیشنهادی نشان می‌دهد.

الف) اثر متغیرها بر روی پاسخ کدورت: تاثیر متغیرهای

میزان SiO₂ در سیپولیت طبیعی 45/45% و در سیپولیت فعال شده 51/66% از کل سیپولیت را تشکیل داده است (جدول 3). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فعال‌سازی اسیدی، سبب افزایش میزان SiO₂ شده است. گزارش شده است که فعال‌سازی اسیدی سبب حذف یا خروج یون Mg²⁺ از ساختار رس و تولید تعداد زیادی گروه Si-OH (سیلانول) می‌شود که گروه‌های آزاد سیلانول قابلیت جذب مواد را دارند (Miura et al., 2012; Sabah et al., 2002). 18/75% از کل سیپولیت طبیعی را MgO تشکیل می‌دهد، در حالی که این میزان در سیپولیت فعال شده 10/45% است. این کاهش در میزان MgO با نتایج Miura و همکاران (2012) مطابقت دارد. آن‌ها

$$y = +19/5 - 3/44C - 2/09AB + 2/34BC - 9/11B^2 + 10/5C^2 \quad (4)$$

همانطور که در معادله 4 دیده می‌شود، غلظت رس به صورت اثر متقابل، دما به صورت اثر متقابل و عبارت درجه دوم و زمان به صورت عبارات درجه اول و دوم و همچنین اثر متقابل، کدورت را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

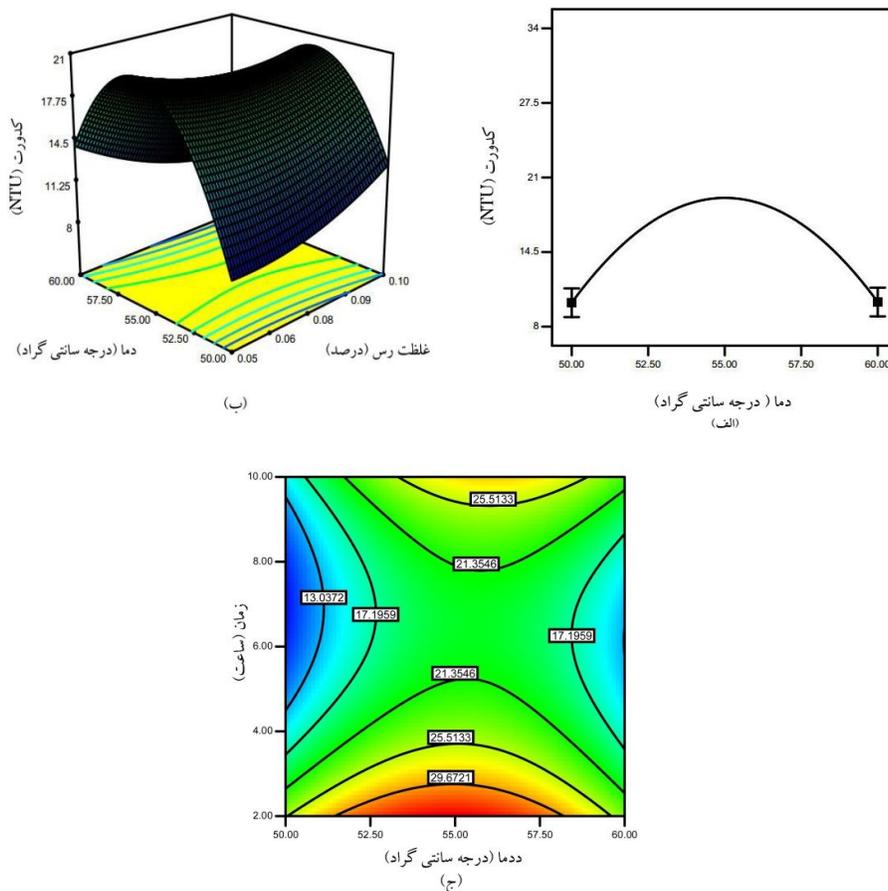
مستقل شامل غلظت رس سپیولیت (A)، دما (B) و زمان (C) فرایند بر روی پاسخ کدورت به کمک RSM بررسی شد. معنی‌داری فاکتورها در معادله کدورت توسط مقادیر $p < 0.05$ ارائه شده در جدول 4 مورد ارزیابی قرار گرفت. معادله 4 نحوه اثر فاکتورهای مستقل را بر روی میزان کدورت آب سیب نشان می‌دهد.

جدول 4. نتایج تجزیه واریانس ضرایب به دست آمده از مدل پیشنهادی

Prob > F	F value	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	ضرایب	
<0/0001	70/61	101/18	9	910/62	-	مدل
-	-	-	-	-	19/50	ضریب ثابت
0/6852	0/17	0/25	1	0/25	-0/16	درصد رس (A)
0/9581	$2/904 \times 10^{-3}$	$4/161 \times 10^{-3}$	1	$4/161 \times 10^{-3}$	-0/019	دما (B)
<0/0001	85/05	121/86	1	121/86	-3/44	زمان (C)
0/0007	22/95	32/89	1	32/89	-2/09	درصد رس × دما
0/1801	2/08	2/98	1	2/98	-0/58	درصد رس × زمان
0/0001	37/94	54/37	1	54/37	2/34	دما × زمان
0/1553	2/36	3/39	1	3/39	1/08	(درصد رس) ²
<0/0001	169/83	243/35	1	243/35	-9/11	(دما) ²
<0/0001	189/44	271/45	1	271/45	10/50	(زمان) ²
-	-	1/43	10	14/33	-	خطای باقی مانده
0/1054	3/35	2/21	5	11/03	-	خطای عدم برازش
-	-	0/66	5	3/30	-	خطای خالص
-	-	-	19	924/95	-	خطای کل

سلولزی با افزایش دما کاهش می‌یابد (Kim et al., 1992). Farmani و همکاران (2006) گزارش کردند که در تصفیه شربت نیشکر با بنتونیت، افزایش دمای فرایند سبب افزایش کدورت شربت خواهد شد. Koyuncu و همکاران (2007) بیان کردند که راندمان جذب ترکیبات سیاه‌رنگ (ترکیبات ملانوتیدین) موجود در آب‌سیب توسط بنتونیت، با افزایش دما، افزایش می‌یابد. Qiu و همکاران (2007) راندمان جذب ترکیبات سیاه‌رنگ آب‌سیب را با استفاده از رزین جذب‌کننده مطالعه کردند. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد که افزایش غلظت رزین و دما، می‌تواند سبب افزایش راندمان جذب شود. با بررسی شکل 1 (ب) مشاهده می‌شود که کمترین میزان کدورت می‌تواند در غلظت کمتر از 0/09% و دمای حدود 50-51 درجه‌سانتی‌گراد و یا غلظت بیشتر از 0/08% و دمای حدود 60 درجه‌سانتی‌گراد به دست آید. اثر غلظت رس بستگی به دمای شفاف‌سازی دارد، به طوری که در دمای 55 درجه‌سانتی‌گراد غلظت رس هیچ تاثیری نداشته ولی در کمترین و بیشترین دما اثر آن بر میزان کدورت آب میوه مشاهده می‌شود.

- اثر دما: مطابق شکل 1 (الف) با افزایش دما تا حدود 55 درجه‌سانتی‌گراد، میزان کدورت به صورت منحنی درجه دوم افزایش می‌یابد و پس از آن با افزایش دما تا 60°C ، کدورت آب سیب روند نزولی خواهد داشت. بنابراین دما در دو انتهای بازه مناسب‌تر عمل کرده و می‌توان دمای 50°C را به عنوان بهترین دما انتخاب کرد. افزایش دما می‌تواند سبب افزایش انرژی جنبشی یا تحرک ذرات گردد و به این ترتیب عوامل کدورت‌زا ممکن است نتوانند در دماهای بیشتر جذب ذرات رس شوند و از طرفی ممکن است حتی عوامل جذب شده نیز به دلیل این افزایش انرژی، مجدداً از سطح ذرات رس به درون آب‌میوه رها شوند (Gökmen et al., 2002). دلیل دیگر این پدیده می‌تواند تشکیل عوامل کدورت‌زا از طریق واکنش‌های غیرآنزیمی در دماهای بیشتر باشد (Farmani et al., 2006). از طرفی با افزایش دما تا حد معینی، ویسکوزیته آب‌میوه کاهش می‌یابد، بنابراین عوامل کدورت‌زای موجود در آب‌میوه با سهولت بیشتری می‌توانند جذب عامل شفاف‌کننده شوند و به این ترتیب کدورت آب‌میوه کاهش خواهد یافت (Qiu et al., 2007). گزارش شده که جذب ترکیبات



شکل 1- تاثیر الف) دما، ب) اثر متقابل دما و غلظت رس، ج) اثر متقابل دما و زمان بر روی میزان کدورت

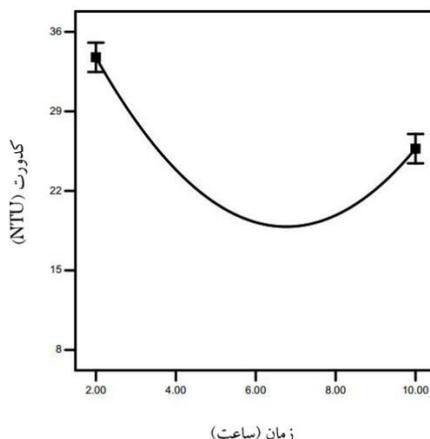
راندمان ناشی از افزایش سطح بنتونیت و در نتیجه افزایش قابلیت جذب آن است. همانطور که در شکل 1 (ج) مشاهده می‌گردد، کمترین میزان کدورت در زمان بین 9-5 ساعت و دمای حدود 50 یا 60 درجه سانتی‌گراد بدست می‌آید.

- اثر زمان: اثر زمان بر روی میزان کدورت آب‌سیب در شکل 2 نشان داده شده است. با افزایش زمان تا 7 ساعت، میزان کدورت به صورت منحنی درجه دوم کاهش می‌یابد و پس از آن با افزایش مدت زمان شفاف‌سازی تا 10 ساعت، کدورت نیز افزایش خواهد یافت. با افزایش بیش از حد زمان ممکن است سطح ذرات سیپولیت توسط عوامل کدورت‌زا اشباع شود و تشکیل کمپلکس‌های درشت مولکول در سطح ذرات رس، سبب جدا شدن این عوامل از سطح رس و آزاد شدن مجدد آن‌ها به درون آب‌میوه خواهد شد. در نتیجه، افزایش بیش از حد زمان شفاف‌سازی می‌تواند سبب افزایش کدورت گردد. Farmani و همکاران (2006) گزارش کردند که از زمان تماس صفر تا 60 دقیقه کاهش کدورت در شربت نیشکر تصفیه‌شده با بنتونیت

همانطور که در این شکل ملاحظه می‌شود کمترین میزان کدورت در بیشترین و کمترین دما حاصل شده است. با افزایش غلظت رس به دلیل اینکه سطح کل افزایش می‌یابد، جذب ترکیبات کدورت‌زا بیشتر می‌شود و به این ترتیب کدورت آب‌میوه کاهش می‌یابد (Qiu et al., 2007)، اما ممکن است با افزایش بیش از حد غلظت رس، ذرات سیپولیت خود به‌عنوان عامل کدورت‌زا عمل کنند و به همین دلیل با افزایش میزان رس، کدورت افزایش می‌یابد (Jahed et al., 2014). Jahed و همکاران (2014) مشاهده کردند که با افزایش غلظت بنتونیت (5-1 گرم بر لیتر)، کدورت شربت چغندر قند افزایش می‌یابد و از حدود 5 NTU به حدود 10 NTU می‌رسد. از طرفی Koyuncu و همکاران (2007) به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت بنتونیت از 0/2 به 0/8 گرم به ازای هر 100 میلی‌لیتر آب‌سیب، کارایی بنتونیت برای جذب ترکیبات سیاه‌رنگ افزایش پیدا می‌کند و بیشترین کارایی و راندمان در غلظت 0/4-0/8 گرم بنتونیت به ازای هر 100 میلی‌لیتر آب‌سیب به‌دست می‌آید. آن‌ها بیان کردند که این افزایش

که افزایش زمان تماس کربن فعال گرانولی با پالپ هلو، سبب افزایش راندمان جذب ترکیبات سیاه‌رنگ از آن می‌شود.

افزایش می‌یابد و پس از آن تا زمان 150 دقیقه کاهش کدورت سیر نزولی خواهد داشت. Arslanoğlu و همکاران (2005) گزارش کردند



شکل 2- تاثیر زمان بر روی میزان کدورت آب سیب

را در شفاف‌سازی آب سیب داشتند و قادر بودند که کدورت آب سیب را از میزان 284/58 NTU به ترتیب به 4/87 NTU و 4/93 NTU کاهش دهند. در واقع این 2 تیمار سبب کاهش کدورت آب سیب به میزان 99/7% طی فرایند شفاف‌سازی شدند. بیشترین میزان کدورت مربوط به تیمارهای سپیولیت و بنتونیت با میزان کدورت نهایی به ترتیب 10/44 NTU و 9/15 NTU بود. بنتونیت و سپیولیت به دلیل ساختار خاص خود قادر به حذف پروتئین از آب میوه از طریق جذب سطحی هستند (Onsekizoglu, 2013). pH ایزوالکتریک ژلاتین برابر با 7 است، لذا، این عامل شفاف‌کننده در pH طبیعی آب میوه که اسیدی است، دارای بار الکتریکی مثبت می‌باشد. از این رو ژلاتین قادر است ترکیبات با بار الکتریکی منفی مانند پلی‌فنول‌ها و به‌خصوص تانن را از آب میوه حذف نماید (Bagci, 2014). کیزل ژل دارای بار الکتریکی منفی است و قادر است مقادیر اضافی ژلاتین را جدا کند. به‌علاوه این ترکیب می‌تواند با سایر ترکیبات دارای بار مثبت نیز واکنش دهد و سبب شفافیت بیشتر آب میوه نهایی گردد (Türkyılmaz et al., 2012). بنابراین کاربرد همزمان این عوامل شفاف‌کننده، سبب حذف مقادیر بیشتری از انواع ترکیبات کدورت‌زا، از آب میوه خواهد شد و در نتیجه آب میوه شفاف‌تری تولید می‌گردد. Tajchakavit و همکاران (2001) و Lee و همکاران (2007) به ترتیب کاهش کدورت را در آب سیب و موز با استفاده از تیمار ترکیب بنتونیت و ژلاتین و هر دو تیمار بنتونیت و تیمار ترکیبی بنتونیت و ژلاتین گزارش کردند.

- ویسکوزیته: ویسکوزیته آب میوه به عوامل مختلفی از جمله مقدار ترکیبات پلی‌ساکاریدی مانند پکتین، نشاسته و سایر مواد جامد

بهینه سازی فرایند شفاف سازی

هدف از انجام مرحله بهینه‌سازی، تولید آب سیب با بیشترین میزان شفافیت و کمترین میزان کدورت بود. شرایط بهینه جهت شفاف‌سازی آب سیب، غلظت رس 0/05 درصد، دمای 50 درجه سانتی‌گراد و زمان فرایند 7 ساعت پیشنهاد شد. مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده کدورت با به کارگیری شرایط بهینه به ترتیب 10/44 NTU و 8/88 NTU به دست آمد. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان 0/05 بین مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده کدورت وجود ندارد.

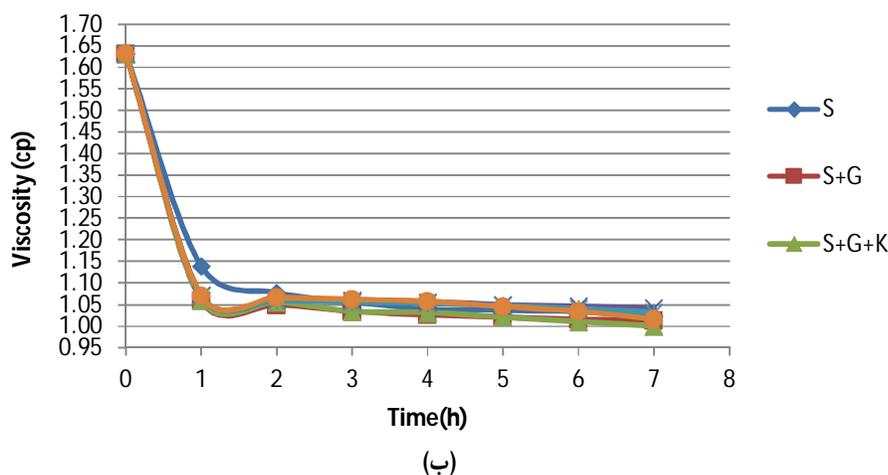
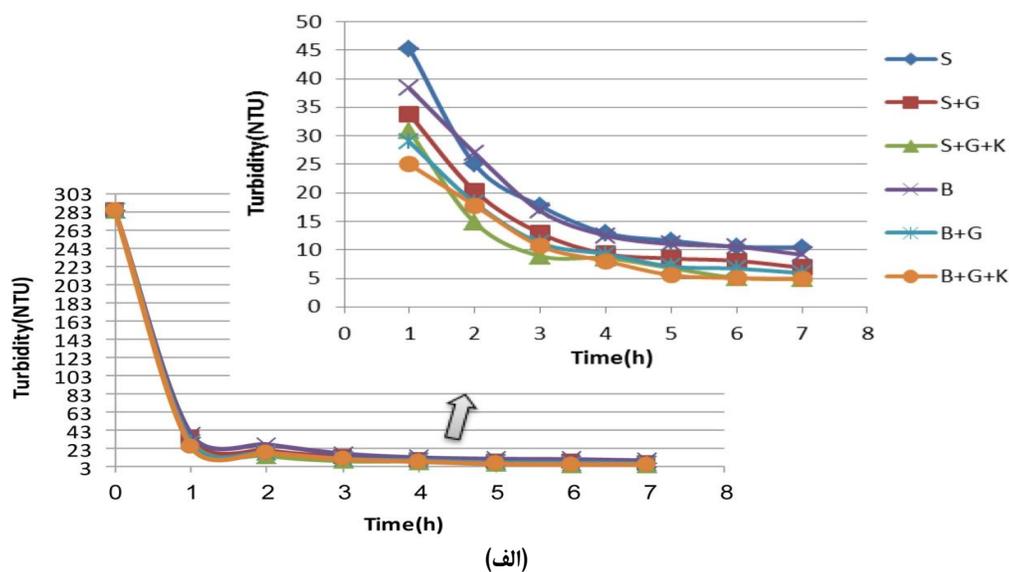
مقایسه قابلیت شفاف‌سازی سپیولیت با سایر عوامل شفاف‌کننده

الف) آنالیزهای فیزیکی و شیمیایی

- کدورت: تغییرات کدورت طی زمان شفاف‌سازی آب سیب با کاربرد انواع عوامل شفاف‌کننده در شکل 3 (الف) قابل مشاهده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، طی زمان شفاف‌سازی، کدورت تمامی نمونه‌ها کاهش می‌یابد. مرحله اول (شفاف‌سازی آنزیمی) کدورت آب سیب را از مقدار اولیه 1646 NTU در آب سیب کدر به میزان 284/58 NTU در آب سیب تیمار شده آنزیمی کاهش داد. آنزیم‌های پکتیناز و آمیلاز، پکتین و نشاسته موجود در آب میوه را هیدرولیز می‌کنند و سبب تشکیل کمپلکس‌های پکتین-پروتئین، پروتئین- کربوهیدرات و یا سایر کمپلکس‌هایی می‌شوند که قادر به رسوب یا ته‌نشینی در آب میوه هستند. به این ترتیب آب میوه‌ای با کدورت و ویسکوزیته کمتر تولید می‌کنند (Lee et al., 2006). در بین تیمارهای به کار رفته در مرحله دوم، تیمارهای S+G+K و B+G+K بیشترین قابلیت

ترکیبات فنولیکی که با پروتئین‌ها پیوند برقرار کرده‌اند را نیز جذب می‌نماید، هرچند که مقدار بسیار کمی از ترکیبات فنولیک می‌توانند از این طریق از آب‌میوه جدا شوند (Lee *et al.*, 2007). کمترین میزان ویسکوزیته در آب‌میوه شفاف‌شده با تیمارهای S+G+K و B+G+K به دست آمد. میزان ویسکوزیته پس از شفاف‌سازی برای تیمار S+G+K مقدار 1 cp و برای تیمار B+G+K مقدار 1/017 cp به دست آمد، زیرا این تیمارها قادرند علاوه بر حذف پروتئین، ترکیبات فنولیک موجود در آب‌میوه را نیز توسط ژلاتین، خارج نمایند.

محلول موجود در آب‌میوه بستگی دارد (Hernandez, 1995; Lee *et al.*, 2006; Rai *et al.*, 2005). تیمار آنزیمی به سبب هیدرولیز پکتین و نشاسته، میزان ویسکوزیته آب‌سیب را کاهش داد. با توجه به شکل 3 (ب) میزان ویسکوزیته طی فرایند شفاف‌سازی کاهش یافت و در طی شفاف‌سازی آنزیمی از مقدار 3/1 به 1/631cp رسید. بیشترین میزان ویسکوزیته در آب‌میوه تیمار شده با سیپولیت (1/023 cp) و بنتونیت (1/043 cp) مشاهده شد. رس‌های سیپولیت و بنتونیت قادر به حذف پروتئین موجود در آب‌میوه از طریق جذب سطحی هستند. علاوه بر این، به صورت غیرمستقیم مقداری از



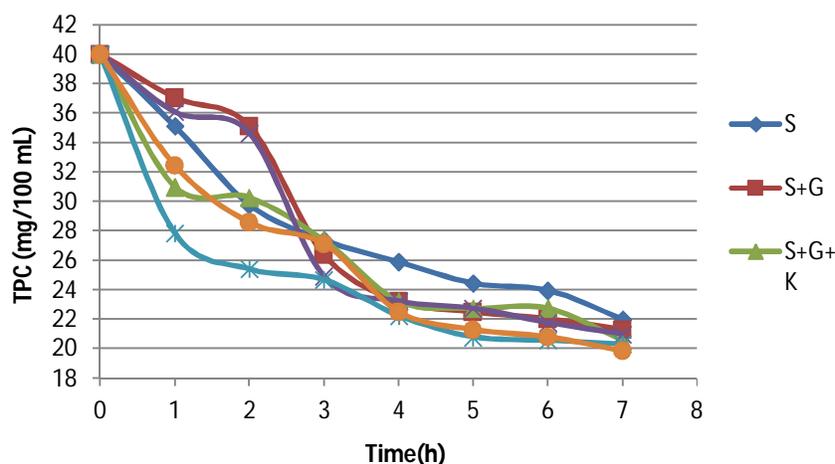
شکل 3- تغییرات کدورت (الف) و ویسکوزیته (ب) طی فرایند شفاف‌سازی

می‌توانند از طریق پلیمریزاسیون اولیه و تجمع یافتن که منجر به تشکیل کمپلکس‌های پلیمری بین فندها، پلی‌ساکاریدها، یون‌های

- ترکیبات فنولیک کل: ترکیبات فنولیک بیشترین تاثیر را در کدورت آب‌میوه‌ها دارند. همانگونه که قبلاً ذکر شد، این ترکیبات

مرحله شفاف‌سازی آنزیمی میزان ترکیبات فنولیک را از 44/38 به 40 میلی‌گرم گالیک اسید به ازای هر 100 میلی‌لیتر آب‌سیب کاهش داد.

فلزی و پروتئین‌ها می‌شود، موجب ایجاد کدورت و طعم و رنگ نامطلوب در آب‌میوه طی نگهداری شوند (Mirsaeedghazi *et al.*, 2010; Onsekizoglu, 2013; Vardin *et al.*, 2003) مطابق با شکل 4 میزان این ترکیبات طی فرایند شفاف‌سازی کاهش می‌یابد.



شکل 4- تغییرات میزان ترکیبات فنولیک کل (TPC) طی فرایند شفاف‌سازی

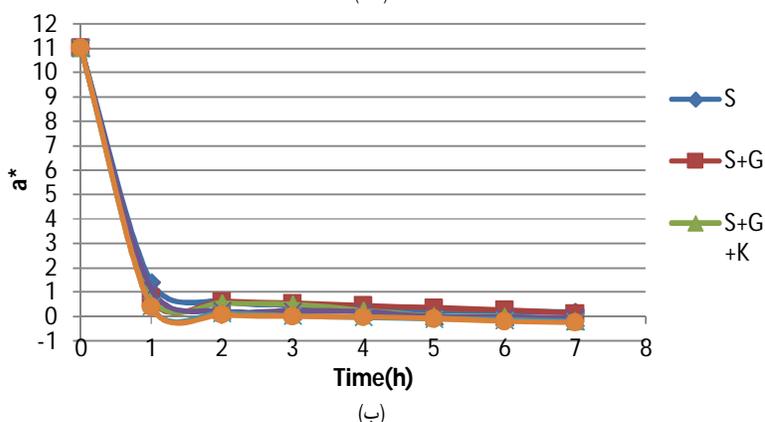
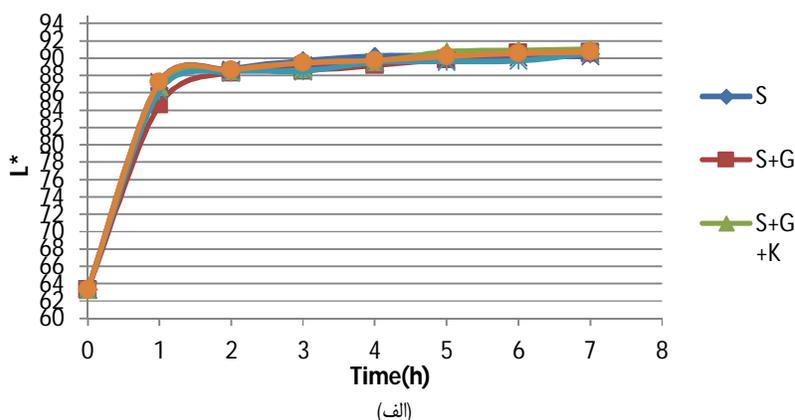
بیشترین میزان روشنایی بود. تیمار B+G+K نیز در بین تیمارهای حاوی بنتونیت با مقداری برابر با 90/73، بیشترین میزان روشنایی را ایجاد کرد. کمترین میزان روشنایی نیز توسط کاربرد سیپولیت (90/48) و بنتونیت (90/22) به تنهایی حاصل شد. بنتونیت و سیپولیت سبب حذف پروتئین می‌شوند. ژلاتین نیز به حذف تانن و پلی‌فنول کمک می‌کند. بنابراین ترکیب سه عامل شفاف‌کننده سبب بهبود رنگ آب‌میوه و روشن‌تر شدن رنگ آن می‌شوند.

شکل 5 (ب) تغییرات شاخص a^* را طی فرایند شفاف‌سازی آب‌سیب نشان می‌دهد. میزان قرمزی از 1/11 به 11/03 در آب‌سیب شفاف‌شده با آنزیم، افزایش یافت. طی زمان شفاف‌سازی با عوامل شفاف‌کننده این شاخص کاهش یافت که ممکن است ناشی از حذف عوامل موثر در قهوه‌ای شدن رنگ آب‌سیب باشد که می‌توانند در کمپلکس‌های ایجاد شده (از جمله پکتین - پروتئین، پروتئین - کربوهیدرات و یا کمپلکس ژلاتین - کیزل ژل) طی شفاف‌سازی آب‌سیب به دام افتند و همراه این کمپلکس‌ها رسوب نمایند و از آن جدا شوند. بنابراین تیمارهایی که آب‌سیب شفاف‌تر و با کدورت کمتر تولید می‌نمایند، میزان این شاخص را بیشتر کاهش می‌دهند. بر این اساس تیمارهای S+G+K (برابر با -0/16) و B+G+K (برابر با -0/26) در آب‌سیب کمترین میزان قرمزی و حتی مقداری رنگ سبز (اعداد در محدوده منفی بودند) ایجاد کردند و تیمارهای سیپولیت (0/19) و بنتونیت (-0/05) در بین 6 تیمار دارای بیشترین میزان شاخص a^* بودند. Oszmiański و همکاران (2007) گزارش کردند

میزان این ترکیبات با استفاده از تیمارهای S+G+K و B+G+K به کمترین حد رسید و به ترتیب برابر با 20/58 و 19/84 میلی‌گرم بود. در تیمارهای سیپولیت (22/02 میلی‌گرم) و بنتونیت (21 میلی‌گرم) آب‌سیب بیشترین میزان ترکیبات فنولیک را داشت. همانطور که قبلاً گفته شد، بنتونیت و سیپولیت به صورت غیرمستقیم سبب کاهش میزان این ترکیبات می‌شوند. همچنین ژلاتین به دلیل pH ایزوالکتریک برابر با 7، در pH طبیعی آب‌میوه که اسیدی است، دارای بار الکتریکی مثبت می‌باشد. از این رو قادر است ترکیبات با بار الکتریکی منفی مانند پلی‌فنول‌ها و به خصوص تانن را از آب‌میوه حذف نماید و به این ترتیب سبب کاهش ترکیبات فنولیک در آب‌میوه شفاف‌شده گردد. بنابراین تیمار ترکیب عوامل شفاف‌کننده سبب کاهش بیشتر میزان ترکیبات فنولیک خواهد شد. Gökmen و همکاران (2001) گزارش کردند که شفاف‌سازی آب‌سیب با استفاده از بنتونیت و ژلاتین میزان ترکیبات فنولیک آب‌سیب را از 13/6 میلی‌گرم در آب‌میوه اولیه به 7 میلی‌گرم در آب‌سیب شفاف‌شده بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک به ازای هر لیتر آب‌سیب کاهش داد.

- رنگ: مطابق با آنچه در شکل 5 (الف) مشاهده می‌شود، شفاف‌سازی می‌تواند سبب افزایش شاخص L^* در آب‌سیب گردد. شفاف‌سازی آنزیمی مقدار این شاخص را از مقدار 2/98 به 63/27 افزایش داد. پکتیناز و آمیلاز قادرند با تجزیه پکتین و نشاسته، آب‌میوه‌ای با شفافیت و روشنایی بیشتر تولید نمایند. از بین تیمارهای حاوی سیپولیت، تیمار S+G+K با شاخص L^* برابر با 91/07 دارای

که کاربرد تیمار ترکیبی B+G+K جهت شفاف‌سازی آب‌سیب، سبب افزایش شاخص L^* و کاهش شاخص a^* شد.



شکل 5- تغییرات شاخص های L^* (الف) و a^* (ب) طی فرایند شفاف سازی

تطابق را با داده های تجربی دارد. Tajchakavit و همکاران (2001) گزارش کردند که سرعت تشکیل کدورت طی انبارمانی آب‌سیب که توسط افزایش کدورت نشان داده می‌شود، از مدل کینتیکی درجه یک پیروی کرد.

تغییرات ویسکوزیته آب‌سیب طی زمان از مدل درجه صفر پیروی کرد. Deshmukh و همکاران (2015) از مدل‌های کینتیکی درجه یک و دو برای توصیف تاثیر مقدار مواد جامد محلول کل بر ویسکوزیته آب ساپوتای (*Achras sapota* L) شفاف‌شده با آنزیم در دماهای مختلف استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که مدل کینتیکی درجه دوم تطابق بیشتری با داده‌های تجربی آن‌ها دارد.

مدل مناسب جهت توصیف تغییرات ترکیبات فنولیک در آب‌سیب با توجه به مقادیر ارائه شده در جدول، مدل کینتیکی درجه یک است. با توجه به نتایج موجود در جدول، می‌توان گفت که تغییرات شاخص L^* و a^* در آب‌سیب طی شفاف‌سازی از مدل کینتیکی درجه صفر پیروی کردند.

Maskan (2006) اعلام کرد که تنوع در تغییرات کلی رنگ

(ب) بررسی کینتیک تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک کل و رنگ

سرعت تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک کل و رنگ طی فرایند شفاف‌سازی آب‌سیب با کاربرد مدل‌های کینتیکی درجه صفر، یک و دو ارزیابی شد. مدل کینتیکی درجه صفر بیانگر این موضوع است که سرعت واکنش یا آنالیز مورد نظر مستقل از غلظت ماده است و تغییرات غلظت نسبت به زمان، به صورت خطی است، در حالی که در مدل‌های درجه یک و دو سرعت تغییرات آنالیز مورد نظر وابسته به غلظت یا میزان آن آنالیز در هر زمان است و تغییرات آنالیز (غلظت) نسبت به زمان غیرخطی است. مدلی که دارای بیشترین میزان R و کمترین مقدار SS_r (مجموع مربعات باقی‌مانده) بود، جهت توصیف سرعت تغییرات واکنش مورد نظر، طی زمان شفاف‌سازی انتخاب شد. مقادیر R و SS_r حاصل از سه مدل کینتیکی برای آنالیزهای ذکر شده، در جدول 5 قابل مشاهده است. همانطور که در این جدول مشاهده می‌گردد، مدل کینتیکی درجه یک جهت توصیف تغییرات کدورت طی فرایند شفاف‌سازی مناسب است و بیشترین

(TCD) کنسانتره آب‌انار توسط مدل درجه یک و مدل‌های ترکیبی درجه صفر و یک توصیف می‌شود. در حالی که شاخص‌های رنگ (L, a و b) فقط با مدل‌های ترکیبی تطابق دارند. مقادیر پارامترهای مدل (k و A₀) حاصل از بهترین مدل، جهت توصیف تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک و رنگ در جدول 6 نشان داده شده است. پارامتر k ثابت سرعت واکنش نامیده می‌شود و سرعت تغییرات را طی زمان نشان می‌دهد.

جدول 5- مقادیر R و SS_r حاصل از سه مدل کینتیکی برای تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک کل و رنگ

شاخص a*		شاخص L*		ترکیبات فنولیک کل		ویسکوزیته		کدورت		تیمار
SS _r	R	SS _r	R	SS _r	R	SS _r	R	SS _r	R	
درجه صفر										
0/353	0/831	4/755	0/875	12/121	0/946	0/002	0/903	269/400	0/849	S
0/001	0/998	7/232	0/907	45/227	0/908	0/000	0/964	141/093	0/867	S+G
0/020	0/986	1/564	0/963	8/768	0/956	0/003	0/901	153/767	0/834	S+G+K
0/335	0/812	1/221	0/935	43/641	0/907	0/000	0/982	138/968	0/896	B
0/031	0/935	2/623	0/931	4/197	0/959	0/000	0/984	90/598	0/886	B+G
0/035	0/931	13/092	0/845	11/189	0/958	0/000	0/960	58/163	0/914	B+G+K
درجه یک										
0/067	0/97	4/855	0/872	8/672	0/993	0/002	0/907	85/286	0/955	S
0/010	0/928	7/461	0/904	31/498	0/925	0/000	0/965	35/579	0/968	S+G
0/097	0/982	1/628	0/962	7/208	0/946	0/003	0/897	43/024	0/957	S+G+K
0/058	0/970	1/248	0/934	31/982	0/924	0/000	0/982	34/434	0/975	B
0/071	0/857	2/686	0/929	3/160	0/968	0/000	0/983	19/908	0/976	B+G
0/116	0/764	13/265	0/843	7/054	0/979	0/000	0/958	7/560	0/989	B+G+K
درجه دو										
0/353	0/831	15309/071	R<0/05	1690/927	R<0/05	0/002	0/903	2399/355	R<0/05	S
0/001	0/998	14641/652	R<0/05	2050/196	R<0/05	0/000	0/964	1392/666	R<0/05	S+G
0/020	0/986	15196/135	R<0/05	1505/674	R<0/05	0/003	0/901	1070/560	R<0/05	S+G+K
0/335	0/812	15488/008	R<0/05	1958/391	R<0/05	0/000	0/982	1944/671	R<0/05	B
0/031	0/935	15112/655	R<0/05	1124/510	R<0/05	0/000	0/984	1052/611	R<0/05	B+G
0/035	0/931	15045/496	R<0/05	1545/535	R<0/05	0/000	0/960	862/485	R<0/05	B+G+K

جدول 6- مقادیر A₀ و k برای هر یک از مدل‌های انتخاب شده

شاخص a* (درجه صفر)		شاخص L* (درجه صفر)		ترکیبات فنولیک (درجه یک)		ویسکوزیته (درجه صفر)		کدورت (درجه یک)		تیمار
k	A ₀	k	A ₀	k	A ₀	k	A ₀	k	A ₀	
0/167	1/150	0/659	86/710	0/074	35/790	0/017	1/126	0/347	58/790	S
0/097	0/830	0/967	84/790	0/110	40/550	0/008	1/062	0/358	45/370	S+G
0/157	0/910	0/752	86/400	0/073	33/640	0/017	1/089	0/445	44/460	S+G+K
0/151	0/850	0/488	87/230	0/108	39/510	0/005	1/074	0/305	49/900	B
0/09	0/380	0/667	86/160	0/057	28/860	0/006	1/075	0/347	38/760	B+G
0/091	0/350	0/805	85/930	0/089	34/580	0/009	1/085	0/353	35/100	B+G+K

بیشترین مقادیر k را داشتند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که دو تیمار سپیولیت و بنتونیت با سرعت کمتری نسبت به سایر تیمارها توانایی تغییر کدورت را دارند. در این‌جا می‌توان به این نکته اشاره کرد

در آنالیز کدورت در بین تیمارهای سپیولیت، تیمار سپیولیت دارای کمترین مقدار k و تیمار S+G+K دارای بیشترین مقدار k بودند. در بین تیمارهای بنتونیت نیز، بنتونیت کمترین و تیمار ترکیبی B+G+K

به‌صورت اثر متقابل، دما به‌صورت اثر متقابل و عبارت درجه دوم و زمان به‌صورت عبارات درجه اول و دوم و همچنین اثر متقابل، بر روی کدورت آب‌سیب اثر می‌گذارند. بهترین شرایط برای شفاف‌سازی و تولید آب‌سیب با کمترین میزان کدورت در غلظت رس 0/05 درصد، دمای 50 درجه‌سانتی‌گراد و زمان 7 ساعت به‌دست آمد. سرعت تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک کل و رنگ طی مدت زمان شفاف‌سازی به‌ترتیب از مدل‌های کینتیکی درجه یک، صفر، یک و صفر پیروی کرد. نحوه عملکرد سپیولیت تقریباً مشابه با بنتونیت برآورد گردید، بطوریکه دو تیمار ترکیب سپیولیت - ژلاتین - کیزل‌ژل و بنتونیت - ژلاتین - کیزل‌ژل به‌عنوان بهترین تیمارها جهت شفاف‌سازی آب‌سیب شناخته شدند. بنابراین رس سپیولیت می‌تواند به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای بنتونیت در صنعت آب‌میوه معرفی گردد.

که یک ارتباط نسبی بین مقادیر k حاصل از تیمارهای مختلف برای میزان کدورت و روشنایی آب‌سیب وجود دارد. به‌طوریکه تقریباً تیمارهایی که دارای مقادیر k بیشتر برای تغییرات کدورت هستند، از k بیشتری برای میزان روشنایی نیز برخوردار می‌باشند. با توجه به این مشاهدات می‌توان نتیجه گرفت که ارتباط مستقیمی بین میزان کدورت و روشنایی آب‌سیب وجود دارد، در واقع هرچه آب‌سیب شفاف‌تر باشد، شاخص L^* یا روشنایی آن نیز بیشتر خواهد بود.

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که فعال‌سازی اسیدی رس سپیولیت ایرانی سبب افزایش سطح ویژه آن از مقدار 108 به $178 \text{ m}^2/\text{g}$ و همچنین افزایش راندمان جذب در مقایسه با نوع طبیعی می‌شود. پس از بررسی فاکتورهای موثر در فرایند شفاف‌سازی مشخص گردید که غلظت رس

منابع

- Alan, N. and İşçi, S., 2014, Surface modification of sepiolite particles with polyurethane and polyvinyl alcohol. *Progress in Organic Coatings*, 77 (2), 444-448.
- Arslanoğlu, F. N., Kar, F. and Arslan, N., 2005, Adsorption of dark coloured compounds from peach pulp by using granular activated carbon. *Journal of food engineering*, 68 (4), 409-417.
- Bagci, P. O., 2014, Effective clarification of pomegranate juice: A comparative study of pretreatment methods and their influence on ultrafiltration flux. *Journal of Food Engineering*, 141, 58-64.
- Balci, S., 1999, Effect of heating and acid pre-treatment on pore size distribution of sepiolite. *Clay Minerals*, 34 (4), 647-647.
- Ceci, L. and Lozano, J., 1998, Determination of enzymatic activities of commercial pectinases for the clarification of apple juice. *Food Chemistry*, 61 (1), 237-241.
- Chatterjee, S., Chatterjee, S., Chatterjee, B. P. and Guha, A. K., 2004, Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochemistry*, 39 (12), 2229-2232.
- Deshmukh, P. S., Manjunatha, S. and Raju, P., 2015, Rheological behaviour of enzyme clarified sapota (*Achras sapota* L) juice at different concentration and temperatures. *Journal of food science and technology*, 52 (4), 1896-1910.
- Farmani, B., Haddade khodaparast, M.H., Hesari, J. and Rezaii Iraqi, E., 2006, Refining of raw sugarcane juice using bentonite: 2 - determination of optimum quantity of gelatin, time and temperature of process with bentonite. *Journal of food science and technology research*, 2, 63-75.
- Gao, L., Beveridge, T. and Reid, C., 1997, Effects of processing and packaging conditions on haze formation in apple juices. *LWT-Food Science and Technology*, 30 (1), 23-29.
- Gökmen, V., Artık, N., Acar, J., Kahraman, N. and Poyrazoğlu, E., 2001, Effects of various clarification treatments on patulin, phenolic compound and organic acid compositions of apple juice. *European Food Research and Technology*, 213 (3), 194-199.
- Gökmen, V. and Çetinkaya, Ö., 2007, Effect of pretreatment with gelatin and bentonite on permeate flux and fouling layer resistance during apple juice ultrafiltration. *Journal of food engineering*, 80 (1), 300-305.
- Gökmen, V. and Serpen, A., 2002, Equilibrium and kinetic studies on the adsorption of dark colored compounds from apple juice using adsorbent resin. *Journal of Food Engineering*, 53 (3), 221-227.
- Hernandez, E., Chen, C., Johnson, J. and Carter, R., 1995, Viscosity changes in orange juice after ultrafiltration and evaporation. *Journal of Food Engineering*, 25 (3), 387-396.
- Jahed, E.; Khodaparast, M. H. H. and Khaneghah, A. M., 2014, Bentonite, temperature and pH effects on purification indexes of raw sugar beet juice to production of inverted liquid sugar. *Applied Clay Science*, 102, 155-163.
- Kim, D. W., Kim, T. S., Jeong, Y. K. and Lee, J. K., 1992, Adsorption kinetics and behaviors of cellulase components on microcrystalline cellulose. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 73 (6), 461-466.
- Koyuncu, H., Kul, A. R., Çalimli, A., Yıldız, N. and Ceylan, H., 2007, Adsorption of dark compounds with bentonites in apple juice. *LWT-Food Science and Technology*, 40 (3), 489-497.
- Lee, W., Yusof, S., Hamid, N. and Baharin, B. S., 2007, Effects of fining treatment and storage temperature on the quality of clarified banana juice. *LWT-Food Science and Technology*, 40 (10), 1755-1764.

- Lee, W., Yusof, S., Hamid, N. S. A. and Baharin, B. S., 2006, Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). *Journal of food Engineering*, 73 (1), 55-63.
- Maskan, M., 2006, Production of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate by various heating methods: colour degradation and kinetics. *Journal of Food Engineering*, 72 (3), 218-224.
- Mirsaeedghazi, H., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, S. M., Aroujalian, A. and Navidbakhsh, M., 2010, Clarification of pomegranate juice by microfiltration with PVDF membranes. *Desalination*, 264 (3), 243-248.
- Miura, A., Nakazawa, K., Takei, T., Kumada, N., Kinomura, N., Ohki, R. and Koshiyama, H., 2012, Acid-, base-, and heat-induced degradation behavior of Chinese sepiolite. *Ceramics International*, 38 (6), 4677-4684.
- Onsekizoglu, P., 2013, Production of high quality clarified pomegranate juice concentrate by membrane processes. *Journal of Membrane Science*, 442, 264-271.
- Oszmiański, J. and Wojdyło, A., 2007, Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and color of apple juice. *European Food Research and Technology*, 224 (6), 755-762.
- Pinelo, M., Zeuner, B. and Meyer, A. S., 2010, Juice clarification by protease and pectinase treatments indicates new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity. *Food and bioproducts processing*, 88 (2), 259-265.
- Qiu, N., Guo, S. and Chang, Y., 2007, Study upon kinetic process of apple juice adsorption de-coloration by using adsorbent resin. *Journal of food engineering*, 81 (1), 243-249.
- Rai, P., Majumdar, G., DasGupta, S. and De, S., 2005, Prediction of the viscosity of clarified fruit juice using artificial neural network: a combined effect of concentration and temperature. *Journal of Food Engineering*, 68 (4), 527-533.
- Rinaldi, M., Caligiani, A., Borgese, R., Palla, G., Barbanti, D. and Massini, R., 2013, The effect of fruit processing and enzymatic treatments on pomegranate juice composition, antioxidant activity and polyphenols content. *LWT-Food Science and Technology*, 53 (1), 355-359.
- Sabah, E. and Çelik, M. S., 2005, Sepiolite: An effective bleaching adsorbent for the physical refining of degummed rapeseed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82 (91), 911-916.
- Sabah, E. and Majdan, M., 2009, Removal of phosphorus from vegetable oil by acid-activated sepiolite. *Journal of Food Engineering*, 91 (3), 423-427.
- Sabah, E., Turan, M. and Celik, M., 2002, Adsorption mechanism of cationic surfactants onto acid-and heat-activated sepiolites. *Water research*, 36 (16), 3957-3964.
- Suárez, M. and García-Romero, E., 2012, Variability of the surface properties of sepiolite. *Applied Clay Science*, 67, 72-82.
- Tajchakavit, S., Boye, J. and Couture, R., 2001, Effect of processing on post-bottling haze formation in apple juice. *Food research international*, 34 (5), 415-424.
- Tastan, O. and Baysal, T., 2015, Clarification of pomegranate juice with chitosan: Changes on quality characteristics during storage. *Food chemistry*, 180, 211-218.
- Tian, G., Wang, W., Kang, Y. and Wang, A., 2014, Study on thermal activated sepiolite for enhancing decoloration of crude palm oil. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 117 (3), 1211-1219.
- Turfan, Ö., Türkyilmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M., 2012, Effects of clarification and storage on anthocyanins and color of pomegranate juice concentrates. *Journal of Food Quality*, 35 (4), 272-282.
- Türkyilmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M., 2012, Clarification and pasteurisation effects on monomeric anthocyanins and percent polymeric colour of black carrot (*Daucus carota* L.) juice. *Food chemistry*, 134 (2), 1052-1058.
- Ünal, H. İ. and Erdoğan, B., 1998, The use of sepiolite for decolorization of sugar juice. *Applied clay science*, 12 (5), 419-429.
- Vardin, H. and Fenercioğlu, H., 2003, Study on the development of pomegranate juice processing technology: clarification of pomegranate juice. *Food/Nahrung*, 47 (5), 300-303.

Application of Iranian Sepiolite in Clarification of Apple Juice: Changes on Quality Characteristics during Process

M. Mirzaaghaei¹, S. A. H. Goli^{*2}, M. Fathi²

Received: 2016.01.17

Accepted: 2016.04.23

Introduction: Flavor, taste, odor and color of fresh apple juice is unstable during concentration process and storage. Pectic substances and phenolic compounds are responsible for these physicochemical changes. So, decreasing of these compounds is necessary to improve the appearance and marketability of apple juice. In fruit juice industry, clarification is one of the most important steps which removes pectin, polyphenols and other unfavorable components and prevents haze formation during storage. Enzymatic clarification (depectinization) can be applied for removal of pectic substances by using pectinase. This enzyme can hydrolyze pectin and produce pectin-protein complexes which would be settled easily. Also in depectinization step, some enzymes such as amylase and amyloglucosidase can be used to degrade starch. Fining agents such as gelatin, bentonite, activated carbon, silicasol or a combination of these compounds can be used in conventional clarification. Sepiolite is a natural fibrous phyllosilicate clay mineral with a formula $Mg_8Si_{12}O_{30}(OH)_4(OH_2)_4 \cdot nH_2O$ ($n=6-8$) which has specific physicochemical properties such as high porosity, surface area and adsorption capacity. This clay has been used in several important applications such as decolorization of sugar juice, removal of phosphorus from vegetable oil and enhancing decoloration of crude palm oil. In this research, efficiency of Sepiolite for apple juice clarification was evaluated. First, the response surface methodology (RSM) was used to optimize apple juice clarification conditions. Then, a comparison among Sepiolite and other commercial fining agents in respect to clarification efficiency was accomplished. Finally, three types of zero-, first- and second-order kinetic models were used for explanation of changes in turbidity, color, viscosity and total phenolic content (TPC) during clarification process of apple juice.

Materials and Methods: The pasteurized and unclarified apple juice, Bentonite, Gelatin (Bloom= 80-100), Amylase (Alphamyl MG) and Pectinase (Pectofruit XL) were gratefully obtained from Behnoosh Iran Co. (Shahrekor, Iran). Sepiolite (with specific surface area of 105 m²/g) was purchased from Farapooyan Isatis Yazd Co. (Yazd, Iran). The kieselgel and chemicals with analytical grade were purchased from Merck Co. (Germany). Sepiolite was activated with hydrochloric acid according to Balci's method with slight modification. For evaluation of Sepiolite changes, some analysis like pH, acidity, density and the moisture content of Sepiolite clay were done before and after the activation by the method of Sabah and Çelik. Specific surface area was measured by using the BET method (Belsorp mini II, Japan). XRF method (PW148, Philips Co.) was used for determining of difference between Sepiolite elemental compositions before and after the activation. A pretreatment was conducted to improve the performance of fining agents according to Türkyilmaz et al.'s method with slight modification. The swelling capability of fining agents in water increases their clarification capacity. In the method of RSM, the independent factors at three levels were concentration of activated Sepiolite (0.05-0.1% w/v), temperature of clarification (50-60°C) and process time (2-10 h). Juice turbidity was regarded as response. As the first step in clarification of apple juice, amylase and pectinase enzymes were applied (25 µl of each enzyme per 100 mL juice at 20°C). The mixture was stirred and heated in an incubator at 55°C for 1 h. Sepiolite was mixed with juice in certain concentrations, stirred and placed in definite temperature and time according to each run of RSM. Finally, the juice was centrifuged (12000 rpm for 5 min) to remove the clay from clarified juice. For kinetic studies, the above steps were done in the optimized conditions using 0.05% fining agents at 50°C for 7 h. A portable turbidometer (MARTINI, Mi 415, Romania) and the capillary viscometer (Ubbelohde-Viscometer, Fisher, USA) were used for measuring the juice turbidity and viscosity at 20°C and expressed as NTU (Nephelometric Turbidity Unit) and centipoise (cp), respectively. Color was measured at 20°C by using a color meter (ZE 6000, Nippon DENSHOKU). The parameters which used for color expression were L* and a* parameters based on CIE Lab system. The Folin-Ciocalteu reagent was used for measuring the total phenolic content of juice and expressed as mg gallic acid equivalent per 100 mL juice. To evaluate Sepiolite performance in juice clarification, following fining agents were applied at optimal conditions: sepiolite (S),

1 and 2. MSc Student and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

(* - Corresponding Author Email: amirgoli@cc.iut.ac.ir)

commercial bentonite (B), and combination of these agents with gelatin (G) and kieselgel (K) (S+G, B+G, S+G+K, B+G+K). The used concentrations of bentonite, gelatin and kieselgel were 0.05%, 0.015% and 0.04% (w/v), respectively. Sampling was conducted at 1 h intervals to evaluate the changes in juice turbidity, viscosity, color and TPC during clarification process. The rates of changes were determined by three types of zero-, first- and second-order kinetic models.

Results and Discussion: Results showed that the activated Sepiolite had less amounts of weight loss, density and pH than the native sample. On the other hand, moisture content and acidity increased. Also, acid activated Sepiolite had higher amounts of SiO₂ groups. The second-order polynomial (quadratic) model was suggested as the best for describing the optimum conditions of clarification with insignificant lack of fit and high R² (0.9845). Based on the results, process time had a significant ($p < 0.05$) effect on turbidity in linear and quadratic terms. The effect of temperature on turbidity was negative in quadratic term. The interaction effect between temperature and clay concentration and between temperature and time was significant. The optimum condition was obtained by using the 0.05% clay concentration at 50°C for 7 h. Application of all treatments caused to decrease in turbidity, viscosity, TPC and the a* parameter, while the L* parameter was increased. The findings revealed that treatments of bentonite-gelatin-kieselgel and sepiolite-gelatin-kieselgel were the most active fining agents that their use led to a reduction of 99.7% in turbidity of apple juice and produced a product with desirable characteristics. Kinetic study for different features was performed and the results indicated that rate of changes in turbidity, viscosity, total phenolic contents and color with time followed first-, zero-, first- and zero-order kinetic models, respectively. Sepiolite can be recommended as a potential alternative for commercial bentonite in fruit juice industry, although more studies are necessary.

Keywords: Activation, Apple juice, Bentonite, Clarification, Kinetic, Sepiolite

مدل‌سازی برخی از خصوصیات شیمیایی روغن سیاه‌دانه تحت تاثیر پیش‌تیمار مایکروویو و سرعت دورانی پرس ماریچی

حمید بخش آبادی¹ - حبیب الله میرزایی^{2*} - علیرضا قدس‌ولی³ - سید مهدی جعفری² - امان محمد ضیایی²

تاریخ دریافت: 1395/05/02

تاریخ پذیرش: 1395/08/15

چکیده

در این تحقیق به منظور مدل‌سازی شبکه‌های عصبی مصنوعی فرایند استخراج روغن از دانه‌های سیاه‌دانه به کمک پیش‌تیمار مایکروویو و زمان‌های مختلف فرایند (90، 180 و 270 ثانیه) و توان‌های مختلف (180، 540 و 900 وات) استفاده گردید. بعد از اعمال این پیش‌تیمارها، روغن دانه‌ها با پرس ماریچی و با سرعت‌های متفاوت (11، 34 و 57 دور در دقیقه) استخراج شد و میزان راندمان استخراج، اندیس اسیدی و اسیدیته، رنگ و پایداری اکسیداتیو نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. جهت پیش‌بینی روند تغییرات از ابزار شبکه‌های عصبی مصنوعی در نرم‌افزار Matlab R2013a استفاده شد. با بررسی توپولوژی‌های مختلف شبکه عصبی، شبکه پس‌انتشار پیشخور با توپولوژی‌های 3-10-5 با ضریب همبستگی بیشتر از 0/995 و میانگین مربعات خطای کمتر از 0/0005 و با بکارگیری تابع فعال‌سازی تانزانت سیگموئید هیپربولیکی، الگوی یادگیری لوبنرگ-مارکوات و چرخه یادگیری 1000 به‌عنوان بهترین مدل عصبی مشخص گردید. نتایج حاصل از مدل‌های بهینه انتخاب شده نیز ارزیابی گردید و این مدل‌ها با ضرایب همبستگی بالا (بیش از 0/949) قادر به پیش‌بینی روند تغییرات بودند.

واژه‌های کلیدی: استخراج روغن، سیاه‌دانه، سرعت دورانی پرس، مایکروویو، شبکه‌های عصبی مصنوعی

مقدمه

غرب آسیا است که دارای 24/48-40/35 درصد روغن و 20/8-26/7 درصد پروتئین می‌باشد (Atta, 2003). این گیاه، هم به‌صورت وحشی و هم به‌صورت زراعی رشد می‌کند که در ایران سیاه‌دانه بیشتر در اراک و در مناطقی از کرمانشاه به طور خودرو می‌روید (امیر مرادی و رضوانی مقدم، 1390). روش‌های استخراج روغن از دانه‌های روغنی، استفاده از پرس و حلال می‌باشد که موثرترین روش استخراج روغن از دانه‌هایی با روغن زیاد، پرس مکانیکی و به دنبال آن استخراج با حلال می‌باشد (Savoire et al., 2013). به دلایل اقتصادی و کاربردی هگزان عمده‌ترین حلال مورد استفاده در استخراج روغن از دانه‌های روغنی به‌شمار می‌رود (Singh et al., 2008)، اما استفاده از حلال، معایبی همچون زمان طولانی فرایند، هزینه‌های بالا، مسائل ایمنی، انتشار ترکیبات آلی فرار به محیط و کیفیت پایین محصولاتی که از طریق دماهای بالای فراوری ایجاد می‌شوند را نیز به‌همراه دارد (Anderson, 1996). به‌طور کلی، استخراج روغن با پرس روشی است که در مقایسه با روش استفاده از حلال، ساده‌تر، ایمن‌تر و کم‌هزینه‌تر بوده و لذا مزایای این روش آن را، نسبت به استفاده از حلال کارا تر می‌سازد. بازده استخراجی روغن در پرس گرم بالاتر از پرس سرد بوده ولی به‌دلیل حرارت تولید شده در حین فشردن، کیفیت روغن حاصله پایین‌تر است و این در حالی است که روغن حاصله از

اخیراً با رشد دانش عمومی، تقاضای مردم برای مصرف روغن‌هایی که علاوه بر تأمین انرژی و ایجاد طعم بر سلامتی هم تأثیر مفید داشته باشد، افزایش یافته است. با توجه به این که بیش از 90 درصد روغن مصرفی کشور از خارج، ایران تأمین می‌شود، بنابراین استفاده از منابع موجود در کشور برای رسیدن به خودکفایی و افزایش سطح زیر کشت دانه‌های روغنی رایج، شناسایی و کشت منابع جدید گامی برای تأمین روغن مورد نیاز کشور است (گلی و همکاران، 1386). یکی از منابع روغنی جدید که غالباً به‌عنوان چاشنی در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد و دارای خواص دارویی و تغذیه‌ای مناسب است، سیاه‌دانه می‌باشد (Cheikh-Rouhou et al., 2007). سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.)، گیاهی از تیره آلاله بوده و بومی

1 و 2 - به‌ترتیب، دانشجوی دکتری و دانشیار، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

3- دانشیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران.

* - نویسنده مسئول: (Email: habibmirzaei@yahoo.ca)

(2014) مطالعه‌ای با هدف افزایش راندمان استخراج روغن از دانه‌های کتان به کمک مایکروویو و به دست آوردن روغنی با کیفیت بهتر صورت دادند، نتایج آن‌ها نشان داد که برای رسیدن به این اهداف بایستی نمونه‌ها برای 3/5 دقیقه در معرض مایکروویو قرار گیرند در حالی که رطوبت دانه‌ها 14 درصد بود. امروزه با توسعه فناوری‌های پردازش رایانه‌ای، از شبکه‌های عصبی مصنوعی (ANN)¹ به طور گسترده‌ای به منظور مدل‌سازی فرایندهای صنایع غذایی و پیشگویی پارامترهای مورد نظر در طراحی و توسعه سیستم‌ها استفاده می‌شود. شبکه‌های عصبی قادر به مدل‌سازی سیستم‌های غیرخطی و پیچیده با تعداد زیادی داده ورودی و خروجی می‌باشند و در اکثر موارد نتایج قابل قبولی توسط محققان گزارش شده است (Yolmeh *et al.*, 2014). در گذشته برخی از محققین اقدام به ارائه مدل‌های مختلف جهت پیش‌بینی پارامترهای کیفی انواع روغن نموده‌اند که از آن جمله می‌توان به Karaman و همکاران (2012) در کاربرد و مقایسه روش انفیس (ANFIS) و هوش مصنوعی برای پیش‌بینی زمان ماندگاری روغن آفتابگردان حاوی آنتی‌اکسیدان اشاره کرد. در زمینه مدل‌سازی استخراج روغن از دانه‌هایی که علاوه بر مصرف تغذیه‌ای، خواص درمانی هم داشته باشند، تحت تاثیر پیش‌تیمار مایکروویو مطالعات اندکی وجود دارد، لذا در این پژوهش با هدف پیش‌بینی روند تغییرات خصوصیات شیمیایی روغن در فرایند استخراج روغن از دانه‌های سیاه‌دانه و مدل‌سازی از ابزار شبکه‌های عصبی مصنوعی استفاده می‌گردد.

مواد و روش‌ها

دانه‌های سیاه‌دانه مورد استفاده در این تحقیق از بازار محلی شهرستان گنبد کاووس و مواد شیمیایی، هیدروکسیدسدیم، فنل فتالئین و الکل اتیلیک از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

آماده‌سازی نمونه و استخراج روغن

در این تحقیق، دانه‌های سیاه‌دانه (با 38 درصد روغن) پس از تهیه، بوجاری شده و در کیسه‌های پلاستیکی مقاوم نسبت به نفوذ هوا و رطوبت تا زمان آزمایشات نگهداری شدند. سپس، آنها تحت تاثیر پیش‌تیمارهای مختلف مایکروویو (L.G، کره جنوبی) با زمان‌های مختلف فرایند (90، 180 و 270 ثانیه) و توان‌های مختلف (180، 540 و 900 وات) قرار گرفتند (Kittiphoom and Sutasinee, 2015). بعد از اعمال این تیمارها، روغن دانه‌ها با پرس ماریچی (Kern Kraft، آلمان) که ظرفیت آن 8 کیلوگرم در ساعت بود و با سه سطح سرعت ماریچی (11، 34 و 57 دور در دقیقه) استخراج گردید و روی

پرس سرد خواص طبیعی خود را بهتر حفظ نموده و عاری از مواد شیمیایی می‌باشد، به همین منظور تقاضای مصرف روغن‌های حاصل از پرس سرد در حال افزایش می‌باشد (Singer *et al.*, 2008). در استخراج روغن به روش پرس سرد، عوامل مختلفی از قبیل فشار پرس، رطوبت دانه و درجه حرارت فرایند بر راندمان روغن استخراج شده تاثیر دارد. در فرایند استخراج روغن، تیماردهی مناسب دانه قبل از استخراج یکی از مهمترین و ضروری‌ترین مراحل برای تولید محصولی با کیفیت و راندمان بالاست (Azadmard *et al.*, 2010). بنابراین اخیراً تکنیک‌هایی از قبیل استخراج با حلال فوق بحرانی (Meireles and Angela, 2003)، فراصوت (Lou *et al.*, 2010)، مایکروویو (Taghvaei *et al.*, 2014) و میدان‌های الکتریکی متناوب¹ (Zeng *et al.*, 2010) مورد توجه قرار گرفته است. اشعه‌های مایکروویو، امواج الکترومغناطیس غیریونیزه با فرکانس 300 مگاهرتز تا 300 گیگاهرتز هستند که بین امواج رادیویی و مادون قرمز در طیف الکترومغناطیس قرار دارند. این امواج از دو میدان عمودی نوسانی یعنی میدان الکتریکی و مغناطیسی ساخته می‌شوند. در این فرایند، حرارت‌دهی در یک مسیر مشخص و انتخابی و بدون اتلاف حرارت به محیط اتفاق می‌افتد، یعنی همانند حرارت‌دهی در یک سیستم بسته می‌باشد. این مکانیسم حرارت‌دهی منجر به کاهش زمان استخراج در مقایسه با روش‌های مرسوم روغن‌کشی می‌شود. اثر این فرایند به وسیله دو پدیده انتقال یونی و چرخش دو قطبی می‌باشد که در اکثر موارد این دو همزمان اتفاق می‌افتد (Mandal *et al.*, 2007). انرژی این امواج به ماده غذایی نفوذ کرده و حرارت داخلی تولید می‌کند این مسئله منجر به نرخ حرارتی بیشتر و کوتاه‌تر شدن زمان فرایند می‌گردد. در دانه‌های روغنی آب به‌عنوان یک ماده دو قطبی به میزان فراوانی یافت می‌شود، هرچند در این رابطه مواد دیگری همچون نمک و پروتئین نیز می‌توانند به‌عنوان ترکیبات دی‌الکتریک عمل نمایند (Sultana *et al.*, 2007). توان مایکروویو و زمان اشعه‌دهی دو فاکتوری هستند که در مقادیر بالا همدیگر را تحت تاثیر قرار می‌دهند. ترکیب توان کم یا متوسط با زمان اشعه‌دهی طولانی ممکن است روش مناسب و معقولی باشد. توان باید به‌طور صحیحی برای جلوگیری از افزایش دما انتخاب شود که دمای بالا می‌تواند منجر به تجزیه ماده حل‌شونده و همچنین فشار بالای درون محفظه شود (Wang and Weller, 2006). در زمینه تاثیر مایکروویو به‌عنوان پیش‌تیمار در حین استخراج روغن می‌توان به‌برخی از مطالعات اشاره نمود، برای مثال Terigar و همکاران در سال 2011، مطالعه‌ای بر استخراج روغن از سویا و برنج تحت تاثیر مایکروویو انجام دادند و بیان داشتند که راندمان استخراج روغن بر اثر استفاده از این پیش‌تیمارها، افزایش می‌یابد و با افزایش قدرت مایکروویو و همچنین مدت زمان در معرض قرار گرفتن نمونه‌ها تحت تاثیر این امواج راندمان استخراج روغن افزایش یافت. Taghvaei و همکاران

این روغن‌ها، آزمایشات مختلف، صورت گرفت.

راندمان استخراج روغن با پرس

برای مشخص کردن راندمان استخراج روغن، ابتدا وزن دانه مصرف شده و وزن روغن حاصل از آن توسط ترازوی دیجیتال (Gec Avery، انگلستان) تعیین شد و با استفاده از رابطه 1 میزان آن به دست آمد (AOAC, 2008).

$$(1) \text{ استخراج روغن (\%)} = 100 \times (\text{وزن دانه‌های اولیه} / \text{وزن روغن حاصله}) = \text{راندمان}$$

اندازه‌گیری اندیس اسیدی و اسیدیتته

برای اندازه‌گیری اندیس اسیدی و اسیدیتته از روش AOCS Cd 3-63 (1993) استفاده شد.

آزمون پایداری اکسیداتیو

میزان پایداری اکسیداسیونی روغن‌ها به وسیله دستگاه نسیمت (Metrohm، سوئیس) و مطابق روش (AOCS, 1993)، در دمای 110 درجه سانتی‌گراد و با سرعت جریان هوا 25 لیتر بر ساعت اندازه‌گیری گردید.

رنگ

برای سنجش رنگ که اغلب مخلوطی از رنگ‌های قرمز و زرد است از روش اسپکتروفوتومتری استفاده شد. برای این منظور دانسیته اپتیک روغن را در طول موج‌های 460، 550، 620 و 670 نانومتر با اسپکتروفوتومتر (Biochrom، انگلیس) اندازه‌گیری و سپس از رابطه 2 برحسب رنگ زرد لایباند مقدار رنگ اندازه‌گیری شد (AOCS, 1993).

$$(2) \text{ رنگ} = 1/29A_{460} + 69/7A_{550} + 41/2A_{620} - 56/4A_{670}$$

پیش‌بینی فرایند استخراج روغن سیاه‌دانه با استفاده از

شبکه‌های عصبی مصنوعی

جهت تعیین شبکه عصبی بهینه از ابزار شبکه عصب نرم‌افزار مطلب استفاده شد. جهت طراحی این شبکه سه ورودی زمان و توان میکروویو و سرعت دوران ماریچ دستگاه پرس روغن‌کشی در یک ماتریس سه سطری و میزان راندمان روغن، عدد اسیدی و اسیدیتته، و میزان رنگ و پایداری اکسیداتیو در یک ماتریس 5 سطری به‌عنوان هدف تعریف گردید. شبکه‌های عصبی مختلف شامل توابع فعال‌سازی و یادگیری متفاوت و همچنین تعداد نرون مختلف در لایه پنهان طراحی و میزان کارایی آنها با استفاده از دو معیار ارزیابی ضریب همبستگی (R^2) و میانگین مربعات خطا (MSE) که به ترتیب با

رابطه‌های 3 و 4 تعیین شدند، مشخص گردید. ابتدا با آزمودن شبکه‌های عصبی مختلف، شبکه عصبی پیشخور با بالاترین کارایی انتخاب گردید و تعداد چرخه‌های یادگیری نیز 1000 در نظر گرفته شد. با در نظر گرفتن این موارد، شبکه‌های عصبی مختلف حاوی یک لایه پنهان که تعداد متفاوتی از نرون‌ها از 1 تا 10 مورد را می‌توانست داشته باشد طراحی گردید. جهت اتصال لایه‌ی ورودی به لایه پنهان توابع فعال‌سازی تانژانت سیگموئید هیپربولیکی، لگاریتمی و خطی در مراحل مختلف آزمون و خطای شبکه‌ها استفاده گردید. همچنین جهت اتصال لایه‌ی پنهان به لایه‌ی خروجی تابع فعال‌سازی خطی به صورت ثابت استفاده شد. علاوه بر موارد ذکر شده دو الگوی یادگیری متفاوت شامل الگوی لونیگ - مارکوات¹ و جهنده² در شبکه‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفت و تاثیر آنها بر دقت شبکه‌ها ارزیابی گردید. در این معادلات Y_{pi} نسبت ویژگی‌های پیش‌بینی شده توسط شبکه، Y_{ei} نسبت ویژگی‌های حاصل از انجام آزمایشات و \bar{Y} میانگین نسبت‌های ویژگی‌های آزمایشگاهی و N تعداد کل مشاهدات است.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (Y_{pi} - Y_{ei})^2}{\sum_{i=1}^N (Y_{pi} - \bar{Y})^2} \quad (3)$$

$$MSE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (Y_{pi} - Y_{ei})^2 \quad (4)$$

وارد کردن داده‌ها به صورت خام باعث کاهش سرعت و دقت شبکه می‌شود. از این رو داده‌های ورودی به شبکه بایستی نرمال شوند. در صورتی که این مرحله انجام نشود، شبکه در طول فاز آموزش همگرا نخواهد شد و نتایج مطلوب تولید نخواهد شد. در این بررسی برای تعدیل کردن داده‌ها از رابطه (5) استفاده شده است که ورودی‌ها و خروجی‌ها را بین 0 و 1 استاندارد می‌نماید.

$$V_N = \frac{V_R - V_{\min}}{V_{\max} - V_{\min}} \quad (5)$$

در این معادله: V_R داده خام اولیه، V_N داده نرمالیزه شده، V_{\max} و V_{\min} به ترتیب مقادیر بیشینه و کمینه داده‌های اولیه می‌باشند.

نتایج و بحث

جداول 1 تا 3 مقایسه اثر تعداد نورون‌های لایه پنهان و نوع الگوی یادگیری را بر دقت پیش‌بینی شبکه‌های عصبی پس‌انتشار پیشخور به ترتیب با توابع انتقال تانژانت سیگموئید هیپربولیکی، لگاریتمی و خطی و چرخه یادگیری 1000، را نشان می‌دهد. با توجه به مقادیر میانگین مربعات خطا و ضریب همبستگی ارائه شده در این جداول، شبکه عصبی پیشخور با تابع انتقال لگاریتم سیگموئیدی، تابع یادگیری جهنده و با توپولوژی 5-10-3 (لایه ورودی با 3 نرون - یک لایه پنهان با 10 نرون - لایه خروجی با 5 نرون) با ضریب

1 Levenberg-Marquardt learning algorithm
2 Resilient backpropagation (trainrp)

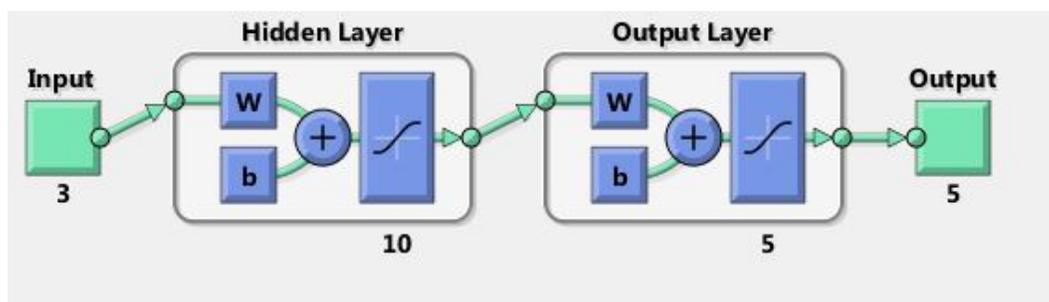
همبستگی بیش از 0/995 و میانگین مربعات خطا برابر با 0/0005 به عنوان شبکه عصبی بهینه انتخاب می‌شود.

جدول 1- مقایسه اثر تعداد نورون‌های لایه پنهان و نوع تابع یادگیری و تابع فعال‌سازی تانژانت هیپربولیک سیگموئیدی بر دقت پیش‌بینی خصوصیات مختلف روغن سیاه‌دانه

الگوی لونیبرگ مارکوات		جهنده‌الگوی		تعداد نرون
R ²	MSE	R ²	MSE	
0/975	0/0031	0/974	0/0028	2
0/972	0/0034	0/986	0/0021	3
0/990	0/0011	0/989	0/0021	4
0/991	0/0014	0/992	0/0011	5
0/993	0/0011	0/992	0/0012	6
0/991	0/0009	0/990	0/0018	7
0/992	0/0010	0/991	0/0008	8
0/981	0/0029	0/990	0/0015	9
0/995	0/0005	0/989	0/0011	10

جدول 2- مقایسه اثر تعداد نورون‌های لایه پنهان و نوع تابع یادگیری و تابع فعال‌سازی لگاریتم سیگموئیدی بر دقت پیش‌بینی خصوصیات مختلف روغن سیاه‌دانه

الگوی لونیبرگ مارکوات		جهنده‌الگوی		تعداد نرون
R ²	MSE	R ²	MSE	
0/978	0/0027	0/973	0/0023	2
0/721	0/0425	0/988	0/0019	3
0/988	0/0019	0/986	0/0018	4
0/985	0/0018	0/972	0/0034	5
0/986	0/0013	0/972	0/0017	6
0/994	0/0009	0/992	0/0018	7
0/994	0/0011	0/993	0/0009	8
0/993	0/0012	0/987	0/0026	9
0/990	0/0013	0/993	0/0009	10



شکل 1- شماتیکی از شبکه بهینه انتخاب شده حاوی سه نرون در لایه ورودی 10 نرون در لایه پنهان با تابع فعال‌سازی تانژانت هیپربولیک سیگموئیدی و 5 نرون در لایه پنهان با تابع تانژانت هیپربولیک سیگموئیدی

جدول 3- مقایسه اثر تعداد نوروں های لایه پنهان و نوع تابع یادگیری و تابع فعال سازی خطی بر دقت پیش بینی خصوصیات مختلف روغن

سیاه دانه				
الگوی لونیبرگ مارکوات		چهنده الگوی		تعداد نرون
R ²	MSE	R ²	MSE	
0/972	0/0054	0/973	0/0038	2
0/977	0/0035	0/977	0/0045	3
0/987	0/0030	0/976	0/0028	4
0/976	0/0029	0/977	0/0039	5
0/975	0/0041	0/970	0/0040	6
0/977	0/0020	0/969	0/0023	7
0/969	0/0052	0/977	0/0035	8
0/976	0/0040	0/974	0/0032	9
0/977	0/0032	0/959	0/0042	10

در لایه خروجی در نظر گرفته شد و در پایان مدل حاصل از شبکه عصبی با دقت مناسبی توانست تغییرات اکسیداسیون روغن ماهی را پیش بینی کند. آن ها اعلام کردند که عدد آنیسیدین به علت اهمیت بیشتر محصولات ثانویه اکسیداسیون از دقت بیشتری برای مدل سازی برخوردار بود.

همچنین بهینه سازی پارامترهای فرایندی روغن های گیاهی خوراکی و همچنین ضایعات حاصل از آن ها با استفاده از شبکه های عصبی مصنوعی توسط محققینی مانند Antonio و Dorado (2006) و Machavaram و همکاران (2008) با موفقیت انجام شده است.

نتیجه گیری

در این پژوهش عملیات مدل سازی پارامترهای استخراج روغن از سیاه دانه به کمک پیش تیمار مایکروویو توسط شبکه عصبی مصنوعی مورد آنالیز قرار گرفت. عملیات مدل سازی با 1 لایه پنهان مورد ارزیابی قرار گرفت. شبکه ی مورد استفاده برای مدل سازی، شبکه پس انتشار پیشخور بود. از توابع فعال سازی مختلف برای تعیین بهترین نوع تابع در تخمین ویژگی های استخراج روغن از سیاه دانه با پیش تیمار مایکروویو مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که بهترین عملکرد مدل سازی با تابع فعال سازی تانژانت هیپربولیک برای پارامترهای مورد بررسی با توپولوژی 5-10-3 می باشد. بطور کلی مقایسه توابع نشان داد که تابع فعال سازی تانژانت هیپربولیک به دلیل داشتن کمترین خطای نسبی و بیشترین ضریب تبیین نسبت به توابع دیگر از دقت بالاتری در پیش بینی پارامترهای استخراج روغن از سیاه دانه برخوردار می باشد

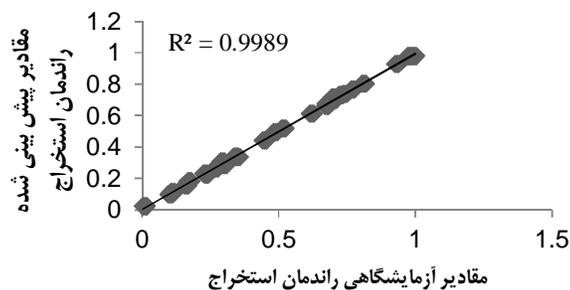
همچنین میزان بالای ضرایب همبستگی نمودارهای شکل 2 که مقادیر پیش بینی شده توسط این شبکه بهینه در مقابل داده های آزمایشگاهی را برای 5 متغیر خروجی مورد نظر نشان می دهد را می توان دلیلی دیگر بر دقت بالای این مدل دانست. Khazaei و Daneshmandi (2007)، خشک کردن لایه نازک یکی از دانه های روغنی را با استفاده از مدل های ریاضی و همچنین با استفاده از شبکه های عصبی مصنوعی مدل سازی کردند. مدل های ریاضی بررسی شده شامل مدل پیچ، هندرسون و پاییس، لگاریتمیک و ویبول بود که با مدل شبکه عصبی مقایسه گردیدند. شبکه عصبی مصنوعی نسبت به مدل های ریاضی با قدرت بهتری قادر به پیش بینی پارامتر مورد نظر بود. شبکه بهینه ی انتخاب شده با توپولوژی 2-3-1 با تابع انتقال تانژانت هیپربولیک سیگموئیدی بود. این مدل قادر به پیش بینی نسبت رطوبت با ضریب همبستگی بیشتر از 0/998 و میانگین مربعات خطای کمتر از 0/0192 بود. Lu و همکاران (2007) نیز استفاده از شبکه های عصبی مختلف را در صنعت روغن مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاکی از دقت قابل قبول این روش در مدل سازی فرایندها در مقیاس صنعتی بود. در مطالعه ای دیگر Przybylski و Zambiasi (2000) ویژگی های مختلف روغن کانولا را با استفاده از شبکه عصبی شبیه سازی نمودند و نتایج این بررسی نشان داد که مدل ارائه شده می تواند جانشین بسیار قدرتمندی برای سایر مدل های آماری باشد. Klaypradit و همکاران (2011) از شبکه عصبی برای پیش بینی پایداری اکسیداسیونی روغن ماهی با استفاده از روش اسپکتروسکوپی مادون قرمز فوریه استفاده کردند. متغیرهای مورد استفاده آنها عبارت بودند از: طول موج و میزان جذب اسپکتروسکوپی مادون قرمز در لایه ورودی و عدد پراکسید (برای اندازه گیری محصولات حاصل از تغییرات اکسیداسیون اولیه) و عدد آنیسیدین برای اندازه گیری محصولات حاصل از اکسیداسیون ثانویه

$$A = \begin{pmatrix} 1/447 & 1/0313 & 0/34723 \\ 5/5786 & -3/0191 & 1/1481 \\ 4/8619 & -2/0995 & 1/1508 \\ -1/9823 & -2/0662 & -1/7723 \\ 0/10236 & -0/4208 & -0/2818 \\ -1/3908 & -0/83441 & -0/25297 \\ 3/1369 & -0/67815 & 0/68124 \\ 3/4703 & -1/8999 & 0/94789 \\ 1/846 & 0/96674 & 0/14392 \\ -2/170 & 0/069552 & 0/057547 \end{pmatrix}$$

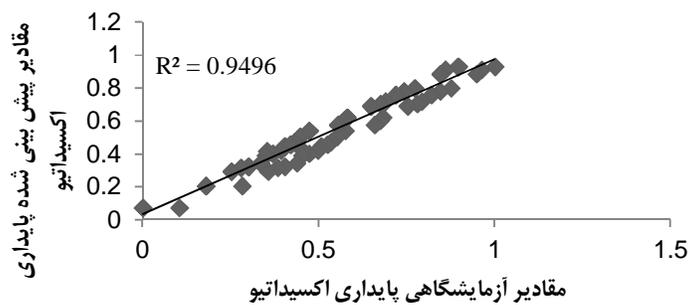
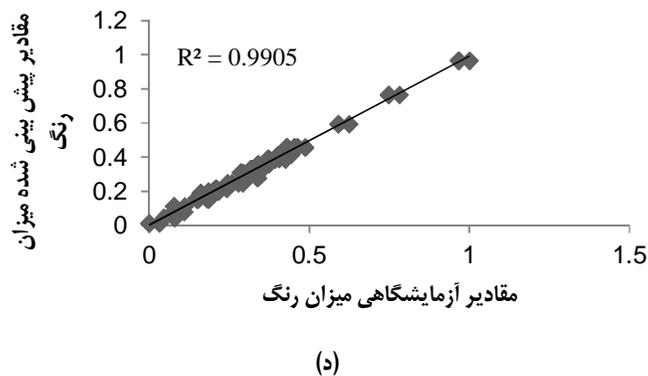
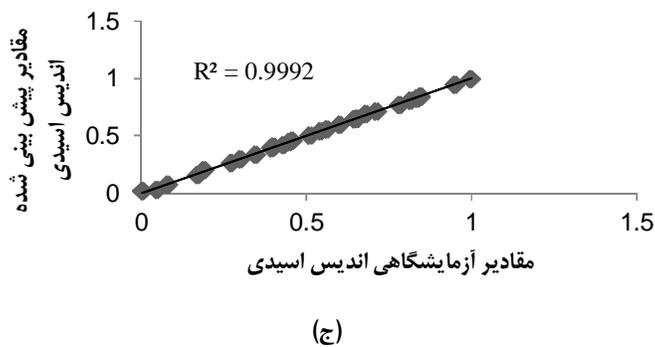
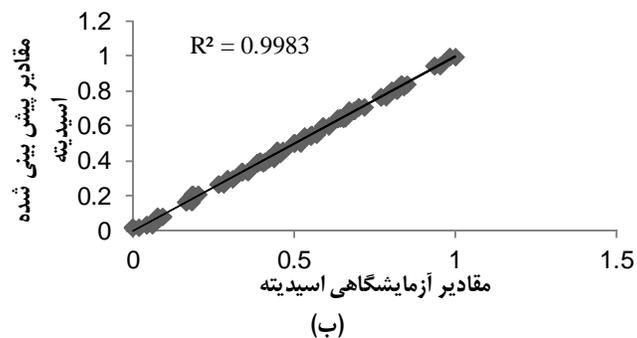
$$B = \begin{pmatrix} 3/1256 & 2/121 & -2/3059 & 0/34041 & 0/88107 & -1/0219 & -1/4173 & 0/5763 & 1/5468 & -1/8873 \\ 1/4461 & -1/3051 & 1/4447 & 0/02825 & 0/02896 & -0/20230 & 0/42647 & -0/1061 & 1/2688 & 0/7927 \\ 1/5218 & -1/4435 & 1/5916 & 0/029218 & 0/012106 & -0/1781 & 0/49426 & -0/13776 & 1/3365 & 0/8765 \\ 1/6714 & -0/9277 & 0/96949 & 0/193 & -0/806 & -0/14982 & 0/7377 & -0/024756 & 0/6360 & 2/0017 \\ -0/58506 & 0/54132 & -0/58885 & -0/028165 & 0/03489 & 0/22418 & -0/05043 & -0/00100 & -0/7378 & 0/30206 \end{pmatrix}$$

در ضمن ماتریس‌های بایاس برای لایه پنهان (ماتریس C) و لایه خروجی (ماتریس D) به ترتیب دو ماتریس 10×1 و 5×1 خواهد بود.

$$C = \begin{pmatrix} -2/8012 \\ -4/7352 \\ -3/8601 \\ 2/4613 \\ -0/58764 \\ 0/09257 \\ 1/8063 \\ 2/4935 \\ 2/8841 \\ -2/693 \end{pmatrix} \quad D = \begin{pmatrix} 0/3966 \\ 0/7773 \\ 0/83526 \\ 0/90357 \\ 0/51509 \end{pmatrix}$$



(الف)



شکل 2- نمودار تغییرات مقادیر پیش‌بینی شده توسط شبکه عصبی برای توپولوژی (پیکربندی) بهینه (5-10-3) در مقابل مقادیر آزمایشگاهی برای راندمان استخراج روغن (الف)، اسیدیتته (ب)، اندیس اسیدی (ج)، رنگ روغن (د) و پایداری اکسیداتیو (و)

منابع

- امیرمردادی، ش. و رضوانی مقدم، پ. 1390. اثر تراکم و زمان مصرف نیتروژن بر خصوصیات مورفولوژیکی، مراحل فنولوژیکی، عملکرد و اجزای عملکرد سیاه‌دانه. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). 25: 251-260.
- گلی، ا. ح.، کدیور، م.، بهرامی، ب. و سبزه‌علیان، م. ر. 1386. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن دانه ماریتیغال. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران. 4: 241-254.
- Anderson, D. 1996. A primer on oils processing technology. In Y. H. Hui (Ed) Bailey's industrial oil and fat products. JohnWiley and Sons, Inc., New York. 4: 10-17.
- AOAC. 2008. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, Vol. II. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
- AOCS. 1993. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, AOCS Press, Champaign, IL. 762p.
- Antonio, J.Y. and Dorado, M.P. 2006. A neural network approach to simulate biodiesel production from waste olive oil. Energy Fuels. 20:399-402.
- Atta, M.B. 2003. Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Journal of Food Chemistry*. 83: 63-68.
- Azadmard, D.S., Habibi, N. F., Hesari, J., Nemati, M. and Fathi, A. B. 2010. Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed. *Food Chemistry*. 121, 1211-1215.
- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C. and Attia, H. 2007. *N. sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Journal of Food Chemistry*. 101(2), 673-681.
- Karaman, S., Ozturk, I., Yalcin, H., Kayacier, A. and Sagdi, O. 2012. Comparison of adaptive neuro fuzzy inference system and artificial neural networks for estimation of oxidation parameters of sunflower oil added with some natural byproduct extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92(1), 49-58.
- Khazaei, J. and Daneshmandi, S. 2007. Modeling of thin-layer drying kinetics of sesame seeds: mathematical and neural networks modeling. *International Agrophysics*. 21, 335-348.
- Kittiphoom, S. and Sutasinee, S. 2015. Effect of microwaves pretreatments on extraction yield and quality of mango seed kernel oil. *International Food Research Journal*. 22(3), 960-964.
- Klaypradit, W., Kerdpi boon, S. and Singh, R.K. 2011. Application of artificial neural networks to predict the oxidation of menhaden fish oil obtained from Fourier transform infrared spectroscopy method. *Food bioprocess Technology*. 4(3):475-80.
- Lou, Z., Wang, H., Zhang, M. and Wang, Z. 2010. Improved extraction of oil from chickpea under ultrasound in a dynamic system. *Journal of Food Engineering*. 98: 13-18.
- Lu, B., Zhang, Y., Wu, X. and Shi, J. 2007. Separation and determination of diversiform phytosterols in food materials using supercritical carbon dioxide extraction and ultraperformance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*. 588. 50-63.
- Mandal, V., Mohan, Y. and Hemalatha, S. 2007. Microwave Assisted Extraction – An Innovative & Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Pharmacognosy Reviews*. 1: 8-14.
- Machavaram, R., Jena, P.C. and Raheman, H. 2008. Prediction of optimized pretreatment process parameters for biodiesel production using ANN and GA. *Fuel* 88:868-875
- Meireles, A. and Angela, M. 2003. Supercritical extraction from solid: Process design data. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. 7: 321-330.
- Przybylski, R. and Zambiasi, R. C. 2000. Predicting oxidative stability of vegetable oils using neural network system and endogenous oil components. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 77(9), 925-932.
- Savoire, R., Lanoiselle, J.L. and Vorobiev, E. 2013. Mechanical continuous oil expression from oilseeds: a review. *Food and Bioprocess Technology*. 6 (1), 1-16.
- Sultana, B., Anwar, F. and Przybylski, R. 2007. Antioxidant potential of corncob extracts for stabilization of corn oil subjected to microwave heating. *Food Chemistry*. 104: 997-1005.
- Singer, A., Nogala-Kalucka, M. and Lampart-Szczap, E. 2008. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plants oil. *Journal of Food Lipids*. 15: 137-149.
- Singh, P., Kumar, R., Sabapathy, S.N. and Bawa. S. 2008. Functional and edible uses of soy protein products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 7(1), 14-28.
- Taghvaei, M., Jafari, S.M., Assadpoor, E., Nowrouzieh, S. and Alishah, O. 2014. Optimization of microwave-assisted extraction of cottonseed oil and evaluation of its oxidative stability and physicochemical properties. *Food Chemistry* 160: 90-97.
- Terigar, B.G., Balasubramanian, S., Sabliov, C.M., Lima, M. and Boldor, D. 2011. Soybean and rice bran oil extraction in a continuous microwave system: From laboratory- to pilot-scale. *Journal of Food Engineering*. 104(2): 208-217.
- Wang, L. and Weller, C.L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Science and Technology*. 17: 300-12.

- Yolmeh, M., Habibi Najafi, M.B., Salehi, F. 2014. GA-ANN and ANFIS modeling of antibacterial activity of annatto dye on *Salmonella enteritidis*. *Microb. Pathogenesis*. 67: 36-40.
- Zeng, X., Han, Z. and Zi, Z. 2010. Effect of Pulse Electric Field Treatment on Quality of Peanut Oil. *Food Control*. 21: 611- 614.

Modeling of the some selected chemical properties of black Cumin seeds' oil influenced by microwave pretreatment and screw rotational speed

H. Bakhshabadi¹, H. A. Mirzaei^{2*}, A. R. Ghodsvali³, S. M. Jafari², A. M. Ziaiefar²

Received: 2016.07.23

Accepted: 2016.11.05

Introduction: Black Cumin seed (*Nigella sativa* L.) as one of the novel edible oil resources used commonly nowadays as seasoning in food product industries due to considerable medicinal properties and high nutritional impacts. Oil extraction by pressing method as an approach compared to other methods including solvent extraction is faster, safer and cheaper. In the oil extraction process, the preparation of the seeds is a substantial stage for obtaining oil with high quality and efficiency. Microwaves are electromagnetic waves that have a frequency ranged from 300 MHz to 300 GHz with corresponding wave lengths ranged from 1 mm to 1 m. On the other hand the artificial neural network as a powerful predictive tool in a wide scale of process parameters has been studied on an industrial scale in this research in order to achieve a simple, rapid, precise as well as effective model in the oil extraction of *Nigella sativa* L seed.

Materials and Methods: In the present study Black Cumin seeds after preparation including cleaning and passing resistance of the samples in front of air and moisture were stored in a plastic bag until the day of experiments. Then, they have been pre-treated with microwave within different processing times (90, 180 and 270 S) and powers (180, 540, and 900 W). Afterwards, seeds' oil was extracted by screw rotational speed levels approach (11, 34 and 57 rpm). Different selected parameters including extraction efficiency, oil acidity value, color and oxidative stability were determined. To predict the alterations trend, the artificial neural network (ANN) design in MATLAB R2013a software was used.

Results and Discussion: According to MSE and R² values obtained in this study, feed forward neural network with transfer function sigmoid hyperbolic tangent and Levenberg- Marquardt learning algorithm with topology of 3-10-5 (input layer with 3 neurons– a hidden layer with 10 neurons – output layer with 5 neurons) were selected as the optimal neural network with R² more than 0.995 and MSE equal to 0.0005. Also, the results of the optimized and selected models were evaluated and these models with high correlation coefficients (over 0.949), were able to predict the changes' trend. According to the complexity and multiplicity of the effective factors in food industry processes and the results of this research, the neural network can be introduced as an acceptable model for modeling these processes. By determining the activation function in neural networks which was a function of sigmoid hyperbolic tangent in this study and also, with having the amounts of weight and bias, the connections created by the neuro-fuzzy model can be extracted. By defining this simple created mathematical equation, in computer software such as Excel, we can have a useful, simple and accurate program for predicting the desired parameters in the process of oil extraction by using microwave pre-treatment. Due to high accuracy of neural model we can trust the prediction of these models with high confidence, and this model can be used to optimize and control the process, which can lead to saving in energy and time, and on the other hand, can create a better final product.

Key words: Artificial neural network, Oil extraction, Black Cumin seed, Screw rotational speed, Microwave.

1& 2- Department of Food Materials and Processing Design Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

3-Associate Professor, Agricultural Engineering Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Gorgan, Iran.

(* - Corresponding Author Email: habibmirzaei@yahoo.ca)

بررسی اثر افزودن نانو رس بر خواص فیلم دولایه آگار/ ژلاتین ماهی حاوی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم

سید مهدی اجاق^{1*} - اکبر وجدان² - مهدی عبدالهی³

تاریخ دریافت: 1395/04/27

تاریخ پذیرش: 1395/09/28

چکیده

فیلم دولایه آگار/ژلاتین حاوی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) (2 درصد وزنی - وزنی) و نانو رس (با غلظت‌های 3، 5، 10 درصد وزنی - وزنی)، به‌وسیله ترکیب در بستر فیلم ژلاتین به روش قالب‌ریزی و طی 2 مرحله تولید شد و ویژگی‌های ساختاری، فیزیکی، مکانیکی و نوری فیلم تولیدی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که اضافه کردن 2 درصد TiO_2 به فیلم دولایه باعث کاهش بیش از 15 درصدی نفوذپذیری نسبت به بخار در فیلم دولایه می‌شود. همچنین، نرخ جذب آب و میزان رطوبت با اضافه کردن 2 درصد TiO_2 افزایش پیدا کرد. استفاده از نانو ذرات TiO_2 به‌طور قابل توجهی خاصیت نفوذپذیری فیلم دولایه را در برابر نور UV بهبود بخشید به‌طوری‌که با افزودن 2 درصد وزنی - وزنی TiO_2 خاصیت نفوذپذیری نور نسبت به فیلم آگار/ژلاتین کاهش و کدورت فیلم تولیدی افزایش یافت. از طرفی، نتایج نشان داد که افزودن 3 درصد نانورس (وزنی - وزنی) به فیلم آگار/ژلاتین حاوی 2 درصد TiO_2 (وزنی - وزنی) حلالیت و مقاومت کششی فیلم تولیدی به‌ترتیب از 31/41 درصد و 11/55 مگاپاسکال به 33/24 درصد و 18/43 مگاپاسکال افزایش یافت. افزودن غلظت‌های 5 و 10 درصد (وزنی - وزنی) نانو رس باعث کاهش حلالیت فیلم‌های تولیدی از 31/41 درصد برای فیلم آگار/ژلاتین شاهد به 26/09 و 21/49 درصد شد. همچنین، افزودن غلظت‌های مختلف نانو رس به فیلم دولایه حاوی 2% TiO_2 باعث کاهش معنی‌دار عبور نور، شاخص سفیدی، جذب آب و کدورت در فیلم‌های تولیدی به‌ویژه در غلظت 10% شد. نتایج حاصل نشان داد که استفاده از غلظت 5 درصد نانو رس در فیلم آگار/ژلاتین حاوی 2 درصد TiO_2 خواص فیزیکی، مکانیکی و نوری (با در نظر گرفتن کدورت) بهتری در مقایسه با سایر تیمارها داشت.

واژه‌های کلیدی: آگار، ژلاتین ماهی، نانو کامپوزیت، دی‌اکسید تیتانیوم، نانو رس

مقدمه

نسبت به پلیمرهای مصنوعی زیست تخریب پذیر بودن آن هاست (ریم و این جی، 2007).

از میان بیوپلیمرها، ژلاتین یکی از بهترین موادی است که تاکنون برای تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به کار رفته است. ژلاتین بیوپلیمری مشتق از کلاژن است (گومز-گیلین و همکاران، 2009). با این وجود فیلم‌های به‌دست‌آمده از این ترکیبات علی‌رغم داشتن ویژگی‌های مطلوب مکانیکی، اغلب سد مناسبی در برابر عبور نور فرابنفش (UV) نمی‌باشند و نمی‌توانند به‌طور مناسب از اکسیداسیون چربی‌ها ممانعت نمایند که برای برطرف شدن این مشکل می‌توان از تکنولوژی نانو رس برای بهبود عملکرد این فیلم‌ها بهره جست. از جمله این نانو ذرات، نانو دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) است که به‌طور گسترده در طول دهه گذشته به دلیل قیمت ارزان، غیرسمی بودن و ممانعتی که در برابر نور فرابنفش و مرئی دارد مورد استفاده قرار گرفته است (فنگ و همکاران، 2007). طبق گزارش سازمان غذا و

بسته‌بندی‌های تهیه شده از مواد نفتی به دلیل ماهیت غیرقطبی، باعث افزایش مخاطرات زیست‌محیطی به‌عنوان چالش مسئله‌ساز در جهان و افزایش تمایل به استفاده از منابع طبیعی به‌عنوان مواد اولیه برای بسته‌بندی مواد غذایی شده است (ریم و همکاران، 2013). به‌طوری‌که این پلیمرهای طبیعی می‌تواند نشاسته، آگار، ژلاتین، کاراگینان و ... باشد (ریم و همکاران، 2013). بسته‌بندی‌های تهیه شده از پلیمرهای زیستی تا حدودی می‌توانند سدی در برابر نور، رطوبت، بخار آب، گازها و مواد محلول باشند. مزیت اصلی پلیمرهای طبیعی

1 و 2 - به ترتیب دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فرآوری محصولات شیلانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
3 - دکتری، دانشگاه تکنولوژی چالمز، گوتنبرگ، سوئد.
(* - نویسنده مسئول: Email: Mahdi_ojagh@yahoo.com
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.57476

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از آگار و گلیسرول (به‌عنوان پلاستیسیزر) (مرک)، ژلاتین ماهیان سردابی (سیگما آلدريج³)، نانو دی‌اکسید تیتانیوم (فاز روتایل⁴ در اندازه 10 تا 15 نانومتر) (تکنان⁵) و نانوذرات رس (مونت‌موریلونیت) (شرکت Southern Clay⁶؛ آمریکا) استفاده گردید.

آماده‌سازی محلول فیلم‌ها

در مرحله اول، برای تهیه محلول آگار 1/5 درصد وزنی - حجمی، ابتدا 1/5 گرم پودر آگار در 100 میلی لیتر آب مقطر به مدت 30 دقیقه در دمای 95 درجه سانتی‌گراد توسط همزن مغناطیسی ترکیب شد. سپس میزان 33 درصد وزن آگار، گلیسرول به‌عنوان پلاستیسیزر فیلم‌ها به محلول آگار اضافه و به مدت 10 دقیقه با همان دما تحت عمل هم زدن شدید قرار گرفت. در ادامه جهت تهیه فیلم آگار تک لایه، 7 گرم از محلول فیلم به درون پلیت‌های پلاستیکی با قطر 8 سانتی‌متر ریخته شد (به‌منظور آزمون مکانیکال از پلیت 15 سانتی‌متر استفاده شد) و نمونه‌ها به‌منظور نیمه‌خشک شدن به مدت 2 ساعت درون آن با دمای 45 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در مرحله دوم، محلول ژلاتین 3 درصد وزن - حجمی به مدت 30 دقیقه بر روی همزن مغناطیسی هیدراته شد پس از هیدراته شدن، محلول ژلاتین به مدت 30 دقیقه در دمای 55 درجه سانتی‌گراد (مو و همکاران، 2012)، روی همزن مغناطیسی آماده‌سازی گردید.

نانو دی‌اکسید تیتانیوم با نسبت 2 درصد وزن ژلاتین در 10 میلی‌لیتر آب مقطر و نانوذرات رس با نسبت‌های 3، 5 و 10 درصد وزن ژلاتین در 10 میلی‌لیتر آب مقطر، به مدت 24 ساعت به کمک همزن مغناطیسی با سرعت بالا پراکنده گردید و با اضافه کردن نانو ذرات TiO_2 و رس به محلول ژلاتین، به‌منظور پراکنده شدن بهتر نانو ذرات در داخل محلول، به مدت 30 دقیقه اتراسوند شد (ژوو و همکاران، 2009). هم زدن شدید تا 1 ساعت ادامه داده شد سپس میزان 33 درصد وزن ژلاتین، گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده به محلول فیلم اضافه گردید. به منظور حباب زدایی محلول ژلاتین- TiO_2 -رس از پمپ خلأ استفاده شد سپس مقدار 5 گرم محلول ژلاتین-نانو دی‌اکسید تیتانیوم-رس آماده‌شده به داخل پلیت حاوی آگار نیمه خشک شده اضافه شد تا تشکیل فیلم دولایه بدهد (آرنسیبیا و همکاران، 2014). در ادامه به‌منظور خشک شدن کامل، فیلم‌های تولیدی به مدت 22 ساعت در انکوباتور یخچال دار با دمای 25 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خشک شدن فیلم‌ها، آن‌ها را از

دارو، حداکثر مقدار دی‌اکسید تیتانیوم مجاز برای غذا 1 درصد است (لی و همکاران، 2011). از طرفی طبق تحقیقات صورت گرفته توسط وجدان و همکاران (2016)، بهترین غلظت TiO_2 برای فیلم‌های آگار و ژلاتین از لحاظ خواص فیزیکی و نوری 2 درصد گزارش شده است. از طرفی چون در تحقیق حاضر از 2 درصد TiO_2 استفاده شده است بنابراین برای جلوگیری از بروز خطرات احتمالی و بهبود ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم تولیدی می‌توان از روش تولید فیلم دولایه بهره جست به‌طوری که لایه حاوی نانوذره در قسمت خارجی فیلم قرار داشته و فقط لایه داخلی در تماس با ماده غذایی باشد. با این حال فیلم تولیدی به‌عنوان یک فیلم زیستی ممکن است در برابر عبور بخار آب و همچنین گازها مقاومت کمتری داشته باشد که برای مقابله با آن می‌توان از نانوذرات رس (مونت‌موریلونیت¹) بهره جست. نانورس به دلیل نسبت منظر بالا (50 تا 1000) و سطح گسترده خود که بیش از 750 متر مربع بر گرم می‌باشد به‌طور موثری به‌عنوان یک پرکننده موجب تقویت بیوپلیمرها از طریق ایجاد فضای پرپیچ و خم در برابر عبور بخار آب می‌شود (آرورا و پادیا، 2010).

از سوی دیگر پلی‌ساکاریدها با تنوع بالایی که دارند قابلیت بسیار خوبی جهت تولید فیلم از جمله خاصیت تشکیل ژل قوی و استحکام مکانیکی بالا از خود نشان می‌دهند. از بین پلی‌ساکاریدها، آگار را می‌توان نام برد که از جلبک دریایی رودوفیسه² استخراج می‌شود. فیلم آگار به دلیل سازگار بودن با محیط‌زیست و قدرت ژلی بالا (فریل و همکاران، 2007) و تولید فیلم خوب از لحاظ مکانیکی (فان و همکاران، 2009) و حساسیت کمتر نسبت به بخار آب و رطوبت (فریل و همکاران، 2007) به‌عنوان مواد اولیه مناسب برای تهیه فیلم و پوشش خوراکی مورد توجه قرار گرفته است. به همین دلیل از آگار می‌توان به‌عنوان لایه دوم برای تولید فیلم دولایه استفاده کرد. بنابراین اضافه کردن نانو دی‌اکسید تیتانیوم به پلیمر ژلاتین از فیلم دولایه آگار/ژلاتین احتمال دارد به‌عنوان سدی در برابر نور UV عمل کرده و بتواند جلوی عبور امواج مضر فرابنفش را بگیرد. لذا در تحقیق حاضر ضمن تولید فیلم دولایه آگار/ژلاتین به همراه نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم-رس با هدف استفاده از مزایای پلیمر آگار مانند آب دوستی کمتر نسبت به ژلاتین و توانایی کاهش عبور نور توسط ژلاتین و نانو دی‌اکسید تیتانیوم و اثر بازدارندگی نانورس مونت‌موریلونیت در برابر عبور گازها، خصوصیات فیلم‌های تولیدی از جمله خواص فیزیکی، مکانیکی و نوری مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت.

3. Sigma-Aldrich
4. Rutile phase
5. TECNAN
6. Southern Clay Products, USA

1. Montmorillonite
2. Rhodophyceae

ساعت درون ظروف حاوی 50 میلی لیتر آب مقطر قرار گرفت. بعد از این مدت نمونه‌ها را به وسیله کاغذ صافی از آب جدا کرده و پس از خشک کردن در آن 105 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت، توزین شدند. میزان حلالیت نمونه‌های فیلم در آب از روی تغییرات وزن فیلم بعد از غوطه‌وری در آب نسبت به وزن اولیه نمونه‌ها و با توجه به رابطه زیر محاسبه گردید:

$$(2) \quad 100 \times (\text{وزن ماده خشک اولیه} / \text{وزن فیلم خشک پس از غوطه‌وری} - \text{وزن ماده خشک اولیه}) = \text{درصد حلالیت}$$

اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری در برابر بخار آب (WVP)

برای محاسبه نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب از روش E96-ASTM 95 (1995) استفاده شد برای انجام این آزمون از فنجان‌های شیشه‌ای با قطر 30 میلی‌متر استفاده شد. درون این فنجان‌ها به مقدار 10 میلی لیتر آب مقطر اضافه کرده و سطح فنجان به وسیله نمونه فیلم کاملاً سالم مسدود و لبه‌ها با استفاده از پارافین درزبندی شد. سپس فنجان‌های حاوی نمونه فیلم درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار داده شد. در دمای 25 درجه سانتی گراد اختلاف رطوبت نسبی در دو سمت فیلم، فشار بخاری معادل با $10^3 \times 2/337$ پاسکال ایجاد می‌کند. نمونه‌ها هر 8 ساعت یک‌بار توزین شده و تغییرات وزن فنجان‌ها طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت 0/0001 گرم اندازه‌گیری شد. منحنی تغییرات رسم و شب هر خط رسم شده به وسیله رگرسیون ($R^2=0/999$) محاسبه گردید. نرخ انتقال بخار آب (WVTR) از تقسیم شیب خط کشیده شده بر سطح فیلم (A) به دست می‌آید.

$$(3) \quad \text{WVTR} = \text{سطح فیلم} / \text{شیب خط}$$

با ضرب کردن نرخ انتقال بخار آب در میانگین ضخامت فیلم (L) و تقسیم بر اختلاف فشار بین رطوبت نسبی درون فنجان‌ها و رطوبت نسبی دسیکاتور (ΔP)، نفوذپذیری در برابر بخار آب (WVP) به دست می‌آید.

$$(4) \quad \text{WVP} = (\text{WVTR} \times L) / \Delta P$$

اندازه‌گیری جذب آب

برای رسم منحنی جذب آب نمونه‌های فیلم، از روش لاورگنا و همکاران (2010) استفاده شد. ابتدا نمونه‌های فیلم به ابعاد 2×2 سانتی متر مربع برش داده شد و به مدت 24 ساعت در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل نگهداری شد. در ادامه با توزین نمونه‌ها به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت 0/0001 گرم، وزن خشک اولیه نمونه‌ها به دست آمد. سپس نمونه در ظروف درب دار حاوی 30 میلی لیتر آب مقطر ($\text{pH} = 7$) و در دمای اتاق غوطه‌ور شد. به منظور تعیین میزان جذب، نمونه‌ها را در زمان‌های معین از ظرف‌ها خارج کرده و پس از خشک کردن به وسیله دستمال کاغذی، مجدداً نمونه‌ها توزین شده و

پلیت‌ها جدا کرده و فیلم‌های آماده جهت انجام تست‌های مربوطه، درون کیسه‌های پلی اتیلنی نگهداری شدند (اجاق و همکاران، 2010).

اندازه‌گیری ضخامت

برای اندازه‌گیری ضخامت نمونه‌ها از ریزسنج دیجیتالی (با دقت 0/001 میلی‌متر، Mitutoyo، ژاپن) استفاده شد. اندازه‌گیری‌ها به صورت تصادفی در پنج نقطه از هر نمونه تکرار شد. میانگین ضخامت این نقاط برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌ها استفاده گردید. از طرفی برای آزمون‌های درصد رطوبت، مکانیکال و نفوذپذیری در برابر بخار آب از مشروط کردن نمونه‌ها استفاده شد. به طوری که نمونه‌ها قبل از انجام آزمون در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم (برای ایجاد رطوبت نسبی 53 درصد) و در دمای 25 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت نگهداری شدند.

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

به منظور بررسی ساختار نمونه فیلم‌های تولیدی از میکروسکوپ الکترونی روبشی (Philips XL30, The Netherlands) استفاده شد. ابتدا فیلم‌ها در ابعاد بسیار کوچک بریده شده و سپس به کمک چسب نقره بر روی پایه آلومینیومی چسبانده شدند. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش‌دهنده/پاشنده طلا پوشش داده شدند. تصویربرداری از نمونه‌ها در بزرگنمایی‌های مختلف انجام گرفت.

درصد رطوبت (MC)

ابتدا نمونه‌های فیلم به شکل مربع به ابعاد $2/5 \times 2/5$ سانتی‌متر بریده شده و در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم (برای ایجاد رطوبت نسبی 53%) و در دمای 25 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت نگهداری شدند. در ادامه نمونه‌ها توزین و داخل پلیت‌های شیشه‌ای قرار داده شد سپس به مدت 24 ساعت در دمای 105 درجه سانتی گراد خشک گردید. نمونه همراه با پلیت پس از این مدت خارج شده و پس از سرد شدن در دسیکاتور مجدداً توزین گردید. محتوای رطوبت فیلم‌ها بر پایه وزن مرطوب از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید (اجاق و همکاران، 2010).

$$(1) \quad 100 \times (\text{وزن نمونه فیلم مرطوب} / \text{وزن نمونه فیلم خشک شده} - \text{وزن نمونه فیلم مرطوب}) = \text{رطوبت} (\%)$$

سنجش حلالیت در آب (WS)

برای به دست آوردن وزن اولیه ثابت، ابتدا نمونه‌های فیلم ($2/5 \times 2/5$ سانتی متر) در آن با دمای 105 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت خشک شد. سپس نمونه‌های خشک شده به مدت 24

داخل دستگاه اسپکتروفتومتری قرار داده شد و عدد قرائت گردید. همچنین به منظور محاسبه میزان کدورت فیلم‌ها از رابطه زیر استفاده گردید.

$$(8) \text{ ضخامت فیلم (میلی‌متر) / میزان جذب در } 600 \text{ نانومتر} = \text{کدورت}$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 20 انجام شد. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolomogorav-Smirnov و سپس همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون³ انجام گردید. جهت تعیین اختلاف بین تیمارها از روش آنالیز یک طرفه⁴ در قالب طرح کاملاً تصادفی و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. سطح معنی‌داری در مورد تمامی فاکتورها $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی

ریخت‌شناسی فیلم‌ها یکی از ویژگی‌های مهم در تعیین بسیاری از خواص (همگنی و ویژگی‌های سطح فیلم) در بیوفیلم‌ها می‌باشد (چانگ و همکاران، 2010). تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح فیلم دولایه آگار/ژلاتین شاهد و سطح فیلم آگار/ژلاتین - TiO_2 حاوی 3، 5 و 10 درصد نانو ذرات رس در شکل 1 نشان داده شده است. مشاهدات حاکی از آن است که سطح فیلم‌های تولیدی صاف، همگن و بدون هیچ‌گونه ترک خوردگی و منفذ می‌باشد. در فیلم دولایه حاوی 2% TiO_2 (b) و 3% TiO_2 نانو رس (c)، توزیع یکنواختی از نانو ذرات TiO_2 و TiO_2 -رس بر روی سطح فیلم دولایه آگار/ژلاتین مشاهده شد. به طوری که نانو ذرات TiO_2 پراکنده شده روی سطح فیلم دولایه b و c به ترتیب 49 و 51 نانومتر مشاهده شدند. در مقابل، با افزایش غلظت نانو ذرات رس، به دلیل تجمع نانو ذرات، اندازه نانو ذرات TiO_2 افزایش یافته و در فیلم دولایه d و e به ترتیب به 58 و 70 نانومتر رسیده است که این امر موجب کاهش همگنی سطح فیلم حاوی 5 درصد و به ویژه 10 درصد نانو رس شد (d و e). دلیل افزایش اندازه نانو ذرات ممکن است در نتیجه سطح انرژی بالای نانو ذرات TiO_2 لی و همکاران (2011)؛ ژلفی و همکاران (2014) و افزایش ویسکوزیته پلیمر در نتیجه افزایش غلظت نانو ذرات رس باشد (آلبوفتیه و همکاران، 2013).

سپس به درون ظرف بازگردانده می‌شد (توزین نمونه تا زمان رسیدن به تعادل رطوبتی ادامه پیدا کرد). میزان رطوبت فیلم نسبت به زمان به وسیله فرمول زیر محاسبه شد:

$$(5) 100 \times (\text{وزن خشک اولیه فیلم} / \text{وزن فیلم خشک اولیه} - \text{وزن فیلم خشک پس از غوطه‌وری}) = \text{درصد جذب رطوب}$$

اندازه‌گیری خواص مکانیکی

اندازه‌گیری میزان مقاومت کششی (TS^1) و کرنش تا نقطه شکست ($E\%^2$) فیلم‌ها با استفاده از دستگاه اینستران (Instron Universal Testing Machine - A1 700, Gotech, Taiwan) با استفاده از استاندارد ASTM D882-02 (2002) اندازه‌گیری شد. ابتدا نمونه‌های فیلم به شکل مستطیل به ابعاد $10 \times 2/5$ سانتی‌متر مربع بریده شده و در دستگاه‌های نیترات منیزیم (برای ایجاد رطوبت نسبی 53%) و در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها بین دو فک دستگاه قرار گرفت. فاصله اولیه بین دو فک و سرعت حرکت فک بالایی به ترتیب برابر 50 میلی‌متر و 50 میلی‌متر/دقیقه تعیین و داده‌ها توسط کامپیوتر ثبت گردید. مقاومت کششی فیلم‌ها از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$(6) \text{ ضخامت فیلم} \times \text{عرض فیلم} / \text{حداکثر نیرو در لحظه پاره شدن} = \text{مقاومت کششی}$$

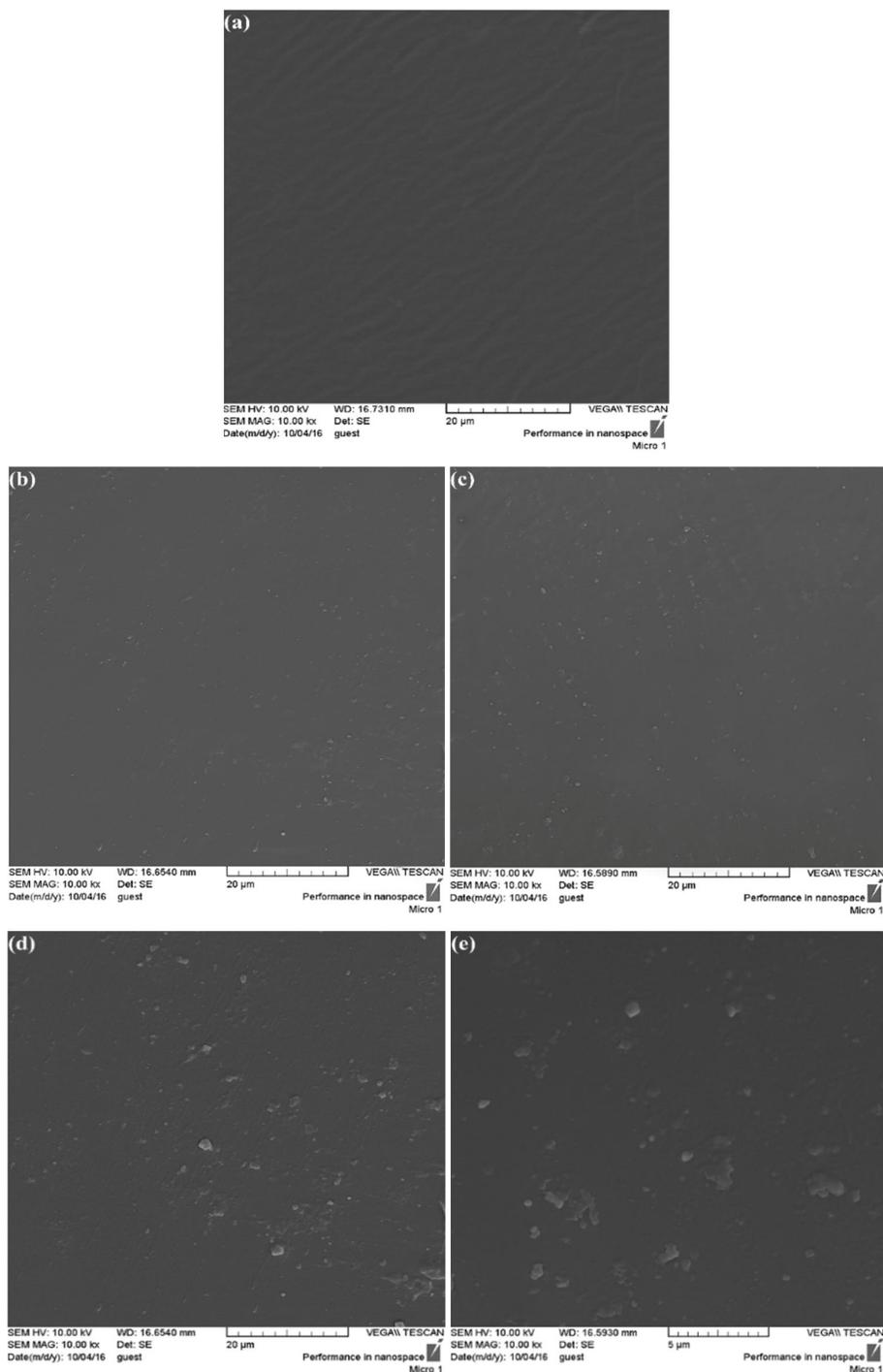
اندازه‌گیری رنگ

جهت تعیین رنگ فیلم‌ها از دستگاه رنگ سنج (BYK Gardner, USA) استفاده گردید. ابتدا نمونه‌های فیلم بر روی صفحه استاندارد سفید ($L^* = 94/63$, $a^* = -0/88$, $b^* = 0/65$) قرار داده شدند. سپس پارامترهای رنگ از قبیل L^* (روشنایی)، a^* (قرمزی-سبزی) و b^* (آبی-زردی) برای هر نمونه با 5 تکرار و با در نظر گرفتن 5 نقطه به صورت تصادفی در هر تکرار به وسیله دستگاه رنگ‌سنج قرائت شد. ΔE (اختلاف رنگ کل)، به وسیله فرمول (7) محاسبه شد.

$$(7) \Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

ارزیابی خواص نوری

طیف عبور نور از نمونه‌های فیلم در طول موج‌های 200-800 نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda 25, PerkinElmer, Fremont, CA, USA) در 5 تکرار اندازه‌گیری شد. ابتدا دستگاه به وسیله سلول خالی کالیبره شد. سپس نمونه‌های برش داده شده ($4 \times 0/9$ سانتی‌متر) را درون سل چسبانده و سپس



شکل 1- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) سطح فیلم دولایه آگار/ژلاتین (a)، آگار/ ژلاتین حاوی 2 درصد دی اکسید تیتانیوم (b) و سطح فیلم دولایه آگار/ ژلاتین -2% دی اکسید تیتانیوم حاوی 3 درصد (c)، 5 درصد (d) و 10 درصد (e) نانو ذرات رس.

ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم

خواص فیزیکی فیلم‌ها (رطوبت، میزان حلالیت، نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) و جذب آب)

نتایج مربوط به درصد رطوبت و درصد حلالیت در آب فیلم‌های تولیدی آگار/ژلاتین در جدول 1 گزارش شده است. با افزودن 2% نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، میزان رطوبت موجود در فیلم‌های تولیدی افزایش پیدا کرده است به طوری که مقدار رطوبت در فیلم شاهد از 13/06 درصد به 15/71 درصد در فیلم دولایه حاوی 2 درصد نانو TiO_2 رسید. که دلیل آن ممکن است به خاطر خاصیت آبدوستی نانو ذرات TiO_2 در فیلم تولیدی باشد (اولیایی و همکاران، 2016). در حالی که با اضافه کردن درصد‌های مختلف نانورس (3، 5 و 10 درصد) به فیلم دولایه حاوی 2 درصد TiO_2 ، میزان رطوبت فیلم‌های تولیدی نسبت به فیلم آگار/ژلاتین حاوی 2 درصد دی‌اکسید تیتانیوم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0/05$). که دلیل آن ممکن است به خاطر افزایش برهم‌کنش بین زنجیره پلیمر (ژلاتین) و نانورس اضافه شده به آن و به دنبال آن کاهش گروه هیدروکسیل باشد (عبدلهی و همکاران، 2013). به طوری که ممکن است افزودن نانوذرات رس باعث تشکیل پیوند قوی هیدروژنی بین گروه‌های هیدروکسیل

بیوپلیمر و نانورس شده باشد (عبدلهی و همکاران، 2013). با این حال، اختلاف معنی‌داری بین فیلم‌های حاوی درصد‌های 5 و 10 درصد نانورس مشاهده نشد ($p > 0/05$).

حلالیت از جمله ویژگی‌های مهم در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر است که می‌تواند تعیین‌کننده میزان مقاومت فیلم نسبت به آب، به‌خصوص در محیط‌های حاوی رطوبت مثل مواد غذایی گوشتی باشد (پورتوم و چینان، 2008). نتایج نشان می‌دهد که اضافه نمودن 2 درصد نانو ذرات TiO_2 به فیلم دولایه آگار/ژلاتین باعث افزایش معنی‌دار حلالیت فیلم تولیدی (36/49 درصد) نسبت به فیلم آگار/ژلاتین شاهد (31/41 درصد) شد ($p < 0/05$) که احتمال دارد به دلیل عدم برهم‌کنش بین TiO_2 و ژلاتین و خاصیت آبدوستی کم نانوذرات TiO_2 باشد (اولیایی و همکاران، 2016). درحالی‌که اضافه کردن درصد‌های مختلف نانورس به فیلم دولایه 2% TiO_2 موجب کاهش معنی‌دار میزان حلالیت در فیلم‌های تولیدی شد که احتمال دارد به دلیل نسبت منظر بالای نانوذرات رس، تعداد برهم‌کنش‌های بین نانوذرات رس و زنجیره‌های پلیمری افزایش یافته و منجر به استحکام بیشتر فیلم‌های حاوی نانوذرات رس در برابر حلالیت در آب شده باشد (ریم، 2011).

جدول 1- خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم دولایه 2% TiO_2 حاوی درصد‌های مختلف نانو ذرات رس.

فیلم	غلظت (%)		ضخامت (μm)	رطوبت (%)	حلالیت (%)	مقاومت کششی (MPa)	افزایش طول (%)
	MMT	TiO_2					
آگار/ژلاتین	0	0	81/67±0/00 ^c	13/06±0/02 ^c	31/41±0/11 ^c	11/55±0/07 ^d	48/19±0/16 ^a
آگار/ژلاتین	0	2	81/71±0/01 ^c	15/71±0/13 ^a	36/49±0/12 ^a	12/86±0/05 ^c	41/77±0/13 ^b
آگار/ژلاتین	3	2	82/11±0/01 ^b	14/41±0/40 ^b	33/24±0/10 ^b	18/43±0/50 ^b	37/55±0/10 ^c
آگار/ژلاتین	5	2	82/14±0/02 ^b	12/03±0/04 ^d	26/09±0/16 ^d	20/54±0/36 ^a	31/49±0/01 ^d
آگار/ژلاتین	10	2	82/85±0/01 ^a	12/32±0/15 ^d	21/49±0/41 ^e	18/02±0/94 ^b	28/90±0/11 ^c

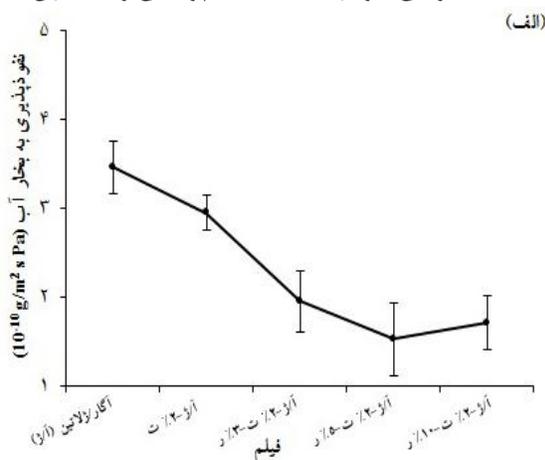
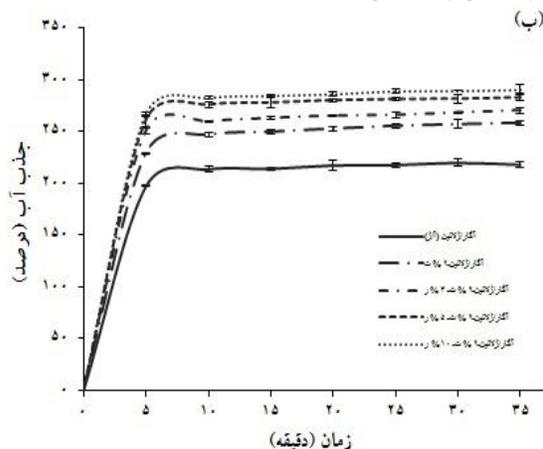
حروف غیرمشابه در هر ستون، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) بین تیمارها می‌باشد.

درصد نانو TiO_2 ، کاهش پیدا کرد. نتایج حاکی از آن است که افزایش غلظت نانو رس در فیلم دولایه باعث کاهش معنی‌داری در مقدار WVP گردید ($p < 0/05$) که با نتایج پیردا و همکاران (2011) همخوانی داشت. کاهش مقدار WVP در تحقیق حاضر می‌تواند به دلیل فضای پریچ و خم ایجاد شده در اثر نانو ذرات رس (با افزایش غلظت این نانوذره) و به دنبال آن بسته شدن مسیره‌های ریز موجود در فیلم‌ها در اثر افزایش اندازه نانوذرات به‌ویژه نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باشد (ریم، 2011).

نتایج مربوط به میزان جذب آب در فیلم‌های دولایه شاهد و فیلم دولایه حاوی 2 درصد TiO_2 با غلظت‌های مختلف نانورس پس از 35 دقیقه غوطه‌وری در آب در شکل 2 (ب) نشان داده شده است. منحنی جذب آب نشان داد که در 5-7 دقیقه اول، فیلم از نظر جذب رطوبت

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) یکی از مهم‌ترین خواص عملکردی فیلم‌ها برای بسته‌بندی مواد غذایی است (جانگ و همکاران، 2010)؛ بنابراین فیلم‌هایی که کمترین میزان WVP را دارند باعث کاهش جابجایی رطوبت بین محیط اطراف و مواد غذایی بسته‌بندی شده و به دنبال آن باعث حفظ کیفیت مواد غذایی می‌شوند (گوتنارد و همکاران، 1992). میزان نفوذپذیری فیلم دولایه حاوی درصد‌های مختلف نانو رس در شکل 2 (الف) مشاهده می‌شود. نتایج نشان می‌دهد که افزودن 2 درصد نانو TiO_2 به فیلم دولایه آگار/ژلاتین باعث کاهش میزان نفوذپذیری آن نسبت به بخار آب می‌شود به طوری که میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم دولایه آگار/ژلاتین شاهد از $3/46 \times 10^{-10}$ پاسکال \times متر⁻¹ ثانیه گرم) $2/95 \times 10^{-10}$ پاسکال \times متر⁻¹ ثانیه گرم) در فیلم حاوی 2

به حالت اشباع رسیده است. با توجه به نتایج، افزودن 2 درصد نانورس TiO_2 موجب افزایش معنی دار جذب آب نسبت به تیمار شاهد شد ($p < 0/05$). به طوری که در دقیقه 35 میزان جذب آب از 217/70 درصد برای فیلم دولایه شاهد به 257/76 درصد برای فیلم دولایه حاوی 2 درصد نانورس TiO_2 افزایش یافت که دلیل آن ممکن است به خاطر ماهیت آب دوستی نانوذرات TiO_2 باشد (اولیایی و همکاران، 2013).



شکل 2- منحنی نفوذپذیری نسبت به بخار آب (الف) و جذب آب (ب) فیلم دولایه آگار/ژلاتین (ا/ژ)، آگار/ژلاتین-2% دی اکسید تیتانیوم (ا/ژ-2% ت)، آگار/ژلاتین-2% دی اکسید تیتانیوم-3% رس (ا/ژ-2% ت-3% ر)، آگار/ژلاتین-2% دی اکسید تیتانیوم-5% رس (ا/ژ-2% ت-5% ر)، آگار/ژلاتین-2% دی اکسید تیتانیوم-10% رس (ا/ژ-2% ت-10% ر).

از جمله گروه های سولفیدریل و کربوکسیلیک با نانوذرات TiO_2 باشد (ژوو و همکاران، 2009). درحالی که درصد افزایش طول به طور معنی داری از 48/19 به 41/77 درصد کاهش یافت (جدول 1). همچنین با افزودن غلظت های 3 و 5 درصد رس مقاومت کششی فیلم ها افزایش یافت که ممکن است به دلیل توزیع همگن نانوذرات رس در ژلاتین باشد به طوری که نانورس در این غلظت ها به عنوان یک پرکننده موجب تقویت خواص پلیمر می شود (آزردو، 2009). با این حال با افزایش غلظت نانورس تا 10 درصد از مقاومت کششی فیلم تولیدی کاسته شد که دلیل آن ممکن است به خاطر تجمع نانوذرات رس و TiO_2 و آسیب دیدن ساختار فیلم در این غلظت از نانورس باشد. همچنین درصد افزایش طول فیلم تولیدی با افزودن نانوذرات TiO_2 و نانورس به شکل معنی داری کاهش یافت ($p < 0/05$) که ممکن است به خاطر خاصیت ضد نرم کنندگی نانوذرات TiO_2 و ماهیت سخت نانورس و TiO_2 در فیلم آگار/ژلاتین باشد که با تحقیقات صورت گرفته توسط لی و همکاران (2011) مطابقت دارد؛ بنابراین احتمال دارد با تغییر نوع یا افزایش در مقدار مواد نرم کننده در فیلم همزمان با افزایش غلظت نانورس بتوان خواص مکانیکی فیلم تولیدی را بهبود بخشید (آلبوفتیل و همکاران، 2013).

خواص مکانیکی فیلم ها (مقاومت کششی و درصد افزایش طول)

در جدول 1 مقادیر ضخامت، مقاومت کششی و درصد افزایش طول در لحظه پاره شدن فیلم های تولیدی نشان داده شده است. با اضافه نمودن 2 درصد TiO_2 به ژلاتین از فیلم دولایه آگار/ژلاتین، ضخامت فیلم تولیدی افزایش پیدا کرد. ولی این افزایش ضخامت معنی دار نبود ($p > 0/05$). از طرفی افزودن غلظت های مختلف نانورس نیز باعث افزایش معنی دار ضخامت فیلم های تولیدی شد به طوری که ضخامت فیلم تولیدی در غلظت 10 درصد نانورس به 82/75 میکرومتر در مقایسه با فیلم آگار/ژلاتین شاهد با ضخامت 81/67 میکرومتر رسید ($p < 0/05$) که ممکن است به دلیل افزایش اندازه نانوذرات TiO_2 و رس در نتیجه افزایش غلظت نانوذرات رس در بستر ژلاتین باشد.

با افزودن 2 درصد نانورس TiO_2 به فیلم دولایه آگار/ژلاتین، میزان مقاومت کششی به طور معنی داری از 11/55 به 12/86 مگا پاسکال افزایش یافت ($p < 0/05$). که نشان دهنده اثر تقویت کننده نانوذرات TiO_2 در بستر ژلاتین است. بهبود مقاومت کششی در این غلظت می تواند متأثر از پراکنده شدن یکنواخت نانوذرات TiO_2 در ماتریکس ژلاتین و برهم کنش برخی از آمینواسیدهای خاص موجود در ژلاتین

ویژگی‌های سطحی، عبور نور و کدورت فیلم‌ها

اثر افزودن نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم-رس بر روی شاخص‌های رنگ L^* ، a^* و b^* اختلاف رنگ نمونه‌ها (ΔE) و شاخص سفیدی (WI) فیلم تولیدی در جدول 2 گزارش شده است. رنگ فیلم به دلیل تأثیر مستقیم بر ظاهر محصولات بسته‌بندی شده و مقبولیت محصول نزد مشتری از اهمیت بالایی برخوردار است (پورتووم، 2008). نتایج حاصل نشان داد که افزودن نانو ذرات TiO_2 به فیلم دولایه موجب کاهش معنی‌دار در شاخص‌های a^* و ΔE و افزایش معنی‌دار در شاخص‌های L^* ، b^* و WI فیلم‌های تولیدی شد (جدول 2).

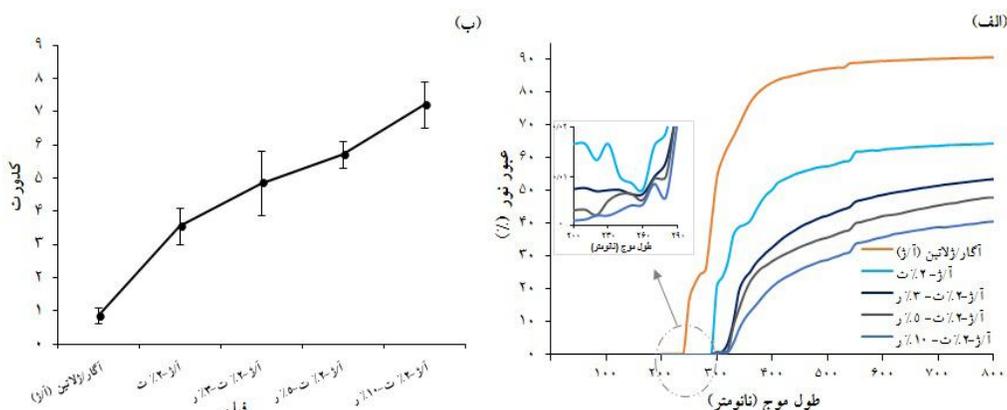
جدول 2- شاخص‌های مربوط به رنگ فیلم دولایه آگار/ژلاتین، آگار/ژلاتین حاوی 2 درصد TiO_2 و آگار/ژلاتین-2% TiO_2 حاوی درصد‌های مختلف نانو ذرات رس.

WI	ΔE	b^*	a^*	L^*	غلظت (%)		فیلم
					MMT	TiO_2	
92/64±1/15 ^c	3/95±0/09 ^{ab}	-0/31±0/45 ^c	2/51±0/48 ^a	93/09±0/17 ^d	0	0	آگار/ژلاتین
95/15±0/08 ^a	3/02±0/21 ^b	0/13±0/66 ^d	2/03±0/20 ^a	95/60±0/90 ^a	0	2	آگار/ژلاتین
94/15±0/71 ^b	3/58±0/07 ^b	0/70±0/01 ^c	1/85±0/05 ^a	95/36±0/61 ^{ab}	3	2	آگار/ژلاتین
90/53±0/20 ^d	4/54±0/01 ^{ab}	1/30±1/03 ^b	1/81±0/26 ^a	95/01±0/78 ^b	5	2	آگار/ژلاتین
88/06±0/91 ^e	6/92±0/37 ^a	1/81±0/35 ^a	1/61±0/10 ^a	94/19±1/41 ^c	10	2	آگار/ژلاتین

حروف غیرمشابه در هر ستون، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) بین تیمارها می‌باشد.

تولیدی شد که دلیل آن ممکن است به خاطر ماهیت رنگ نانو ذرات رس و یا حل نشدن کامل نانو ذرات غیرآلی رس در غلظت بالاتر در ماتریس ژلاتین باشد (عبدالهی و همکاران، 2013). همچنین با افزایش مقدار نانو ذرات رس تا سطح 10 درصد، کدورت فیلم‌های تولیدی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0/05$)؛ به‌طوری‌که میزان کدورت در فیلم دولایه شاهد و فیلم دولایه-2% TiO_2 حاوی 10 درصد نانورس به ترتیب 0/83 و 7/19 مشاهده شد. شفافیت فیلم‌ها به دلیل داشتن رابطه مستقیم با ظاهر محصول، از جمله ویژگی‌های مهم بسته‌بندی مواد غذایی محسوب می‌شود (چن و همکاران، 2010). هر چه شفافیت فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر بیشتر و به پلیمرهای سنتزی نزدیک‌تر باشد، پذیرش و استفاده از این نوع مواد بسته‌بندی افزایش می‌یابد. از طرفی شفافیت فیلم‌ها می‌تواند بر سرعت اکسیداسیون چربی‌ها و در نهایت کیفیت محصول بسته‌بندی شده تأثیرگذار باشد (رائو و همکاران، 2010). با توجه به شکل 3 (ب) کدورت فیلم دولایه با افزودن نانو TiO_2 افزایش معنی‌داری داشت و دلیل آن ممکن است به خاطر رنگ سفید نانو ذرات TiO_2 باشد. در صورتیکه اضافه نمودن غلظت‌های مختلف نانو ذرات رس باعث افزایش معنی‌دار کدورت فیلم تولیدی شد ($p < 0/05$). که دلیل آن حل نشدن کامل نانو ذرات رس در ماتریس ژلاتین و بروز خاصیت خودتجمعی به ویژه در غلظت 10 درصدی نانو ذرات رس می‌باشد (آلبوفیتله و همکاران، 2013).

مقادیر نفوذپذیری فیلم‌های دولایه تولیدی نسبت به نور در طول موج‌های 200-800 نانومتر و همچنین کدورت فیلم‌های تولیدی در شکل 3 نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن است که افزودن نانو ذرات TiO_2 به فیلم ژلاتین از فیلم دولایه آگار/ژلاتین به‌طور معنی‌داری منجر به کاهش عبور نور به‌ویژه در ناحیه فرابنفش می‌شود ($p < 0/05$). همچنین اضافه کردن غلظت‌های مختلف نانورس باعث کاهش عبور نور هم در ناحیه مرئی و هم در ناحیه فرابنفش شد به‌طوری‌که کمترین میزان عبور نور، برای فیلم دولایه-2% TiO_2 حاوی 10 درصد نانورس بود. بر اساس مطالعات صورت گرفته توسط ژلفی و همکاران (2014)، نانو ذرات TiO_2 به دلیل ماهیت فلزی و ایجاد محلول سفیدرنگ در هنگام آماده‌سازی فیلم که باعث افزایش کدورت فیلم تولیدی می‌شود مسئول جلوگیری از عبور نور به‌ویژه در ناحیه فرابنفش است. از طرفی آمینواسیدهای آروماتیک موجود در ژلاتین از فیلم دولایه، ممکن است مسئول جذب بخشی از نور فرابنفش در این فیلم‌های تولیدی باشد. نتایج به‌دست آمده پیشنهاد می‌کند که فیلم دولایه آگار/ژلاتین حاوی درصد‌های بالای نانو TiO_2 به دلیل خاصیت محافظت‌کنندگی بالایی که در برابر نور فرابنفش دارد توانایی به عقب انداختن اکسیداسیون چربی‌ها در محصولات غذایی بسته‌بندی شده حساس به نور را دارد. از طرفی اضافه نمودن نانو ذرات رس به فیلم دولایه باعث افزایش کدورت فیلم



شکل 3- میزان عبور نور (الف) و کدورت (ب) فیلم دولایه آگار/ژلاتین (آ/ژ)، آگار/ژلاتین-2% دی اکسید تیتانیوم (آ/ژ-2% ت)، آگار/ژلاتین-2% دی اکسید تیتانیوم-3% رس (آ/ژ-2% ت-3% ر)، آگار/ژلاتین-2% دی اکسید تیتانیوم-5% رس (آ/ژ-2% ت-5% ر)، آگار/ژلاتین-2% دی اکسید تیتانیوم-10% رس (آ/ژ-2% ت-10% ر).

در فیلم دولایه-2% TiO_2 به دلیل خاصیت آبدوستی بالا، باعث افزایش میزان جذب آب و به دلیل ایجاد مسیرهای پریپیچ و خم و برهمکنش بین لایه‌های رس و ماتریکس ژلاتین در فیلم تولیدی به ترتیب باعث کاهش نفوذپذیری در برابر گازها و کاهش رطوبت فیلم تولیدی شد. سطح 5% نانورس به‌عنوان سطح مناسب جهت افزودن به فیلم توصیه می‌شود چون خواص فیزیکی از جمله نفوذپذیری در برابر بخار آب، مقاومت کششی و خواص نوری بهتری (با در نظر گرفتن کدورت) نسبت به بقیه غلظت‌ها از خود نشان می‌دهد. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان اظهار داشت که فیلم دولایه آگار/ژلاتین به دلیل قابلیت بالا در کاهش عبور نور به‌ویژه در ناحیه فرابنفش (توسط نانوذرات تیتانیوم رس) و خواص مقاومتی بالا در برابر عبور بخار آب و گازها (توسط نانو ذرات رس) پتانسیل استفاده به‌عنوان مواد بسته‌بندی دوستدار محیط‌زیست را دارا بوده و می‌تواند ماندگاری مواد غذایی حساس به نور و گازها را به مدت طولانی افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد نانوذرات TiO_2 در فیلم دولایه آگار/ژلاتین به دلیل ساختار کریستالی و باتوجه به ضریب انکسار بالا، مقدار عبور نور به ویژه در ناحیه فرابنفش را به طور قابل توجهی کاهش داد. از طرفی، افزودن غلظت‌های مختلف نانوذرات MMT (3، 5 و 10%) به فیلم دولایه آگار/ژلاتین حاوی 2 درصد TiO_2 باعث ایجاد تغییراتی در خواص فیزیکی و مکانیکی این فیلم دولایه شد. به طوری که افزودن 3 درصد نانورس باعث افزایش معنی‌داری در مقدار مقاومت کششی، جذب آب، کدورت، اختلاف رنگ کل و کاهش معنی‌داری در میزان حلالیت، درصد ازدیاد طول، نفوذپذیری نسبت به بخار آب و میزان عبور نور به ویژه در ناحیه فرابنفش در مقایسه با فیلم شاهد شد. همچنین، با افزایش غلظت نانورس تا 10 درصد بر میزان تغییرات خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم دولایه افزوده شد. بر اساس نتایج بدست‌آمده می‌توان اظهار داشت که استفاده از نانوذرات MMT

منابع

- Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Rezaei, M., and Behrooz, R. 2013. Comparing physico-mchanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers. *Food Hydrocolloids*, 32(2), 416-424.
- Alboofetileh, M., Rezaei, M., Hosseini, H., and Abdollahi, M. 2013. Effect of montmorillonite clay and biopolymer concentration on the physical and mechanical properties of alginate nanocomposite films. *Journal of Food Engineering*, 117(1), 26-33.
- Arancibia, M., Giménez, B., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., and Montero, P. 2014. Release of cinnamon essential oil from polysaccharide bilayer films and its use for microbial growth inhibition in chilled shrimps. *LWT - Food Science and Technology*, 59(2, Part 1), 989-995.
- Azeredo, H. 2009. Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International*, 42(9), 1240-1253.
- Bourtoom, T. and Chinnan, M. S. 2008. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. *LWT-Food Science and Technology*, 41(9): 1633-1641.

- Chang, P. R., Jian, R., Zheng, P., Yu, J., and Ma, X. 2010. Preparation and properties of glycerol plasticized-starch (GPS)/cellulose nanoparticle (CN) composites. *Carbohydrate Polymers*, 79(2), 301-305.
- Chen, C. H., Kuo, W. S. and Lai, L. S. 2010b. Water barrier and physical properties of starch/decolorized hsian-tsoa leaf gum films: Impact of surfactant lamination. *Food hydrocolloids*, 24(2): 200-207.
- Feng, X. X., Zhang, L. L., Chen, J. Y., Guo, Y. H., Zhang, H. P., and Jia, C. I. 2007. Preparation and characterization of novel nanocomposite films formed from silk fibroin and nano-TiO₂. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40(2), 105-111.
- Freile, P.Y., Madera, S.T., Robledo, D., Veleza, L., Quintana, P. and Azamar, J. A. 2007. Degradation of agar films in a humid tropical climate: thermal, mechanical morphological and structural changes. *Polymer Degradation and Stability*, 92 (2): 244-252.
- Gómez-Guillén, M. C., M. Pérez-Mateos, J. Gómez-Estaca, E. López-Caballero, B. Giménez, and P. Montero. 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science and Technology*, 20: 3-16.
- Gontard, N., Guilbert, S., and Cuq, J.-L. 1992. Edible wheat gluten films-influence of the main process and environmental-conditions on thermal, amechanical and barrier properties. Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 204, 217-AGFD.
- Jang, S.-A., Lim, G.-O., and Song, K. B. 2010. Original article: use of nano-clay (Cloisite Na) improves tensile strength and vapour permeability in agar rich red algae (Gelidium corneum)-gelatin composite films. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(9), 1883-1888.
- Kanmani, P., and Rhim, J. W. 2014. Development and characterization of carrageenan/grapefruit seed extract composite films for active packaging. *International journal of biological macromolecules*, 68: 258-266.
- Lavorgna, M., Piscitelli, F., Mangiacapra, P. and Buonocore, G. G. 2010. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 82(2): 291-298.
- 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(5), 1098-1104.
- Mu, C., Guo, J., Li, X., Lin, W., and Li, D. 2012. Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. *Food Hydrocolloids*, 27(1): 22-29.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., and 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.
- Oleyaei, S. A., Zahedi, Y., Ghanbarzadeh, B., and Moayedi, A. A. (2016). Modification of physicochemical and thermal properties of starch films by incorporation of TiO₂ nanoparticles. *International journal of biological macromolecules*, 89, 256-264.
- Pavlat, A. E., Gosset, C., Camirand, W. and Robertson, G. H. 1999. Ionomeric films of alginic acid. *Journal of Food Science*, 64: 61-63.
- Pereda, M., Ponce, A. G., Marcovich, N. E., Ruseckaite, R. A. and Martucci, J. F. 2011. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 25(5): 1372-1381.
- Rhim, J. W., and Ng, P. K. 2007. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47(4): 411-433.
- Rhim, J. W., Hong, S. I., Park, H. M., and Ng, P. K. W. 2006. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5814-5822.
- Shen, X. L., Wu, J. M., Chen, Y. and Zhao, G. 2010. Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. *Food Hydrocolloids*, 24: 285-290.
- Vejdan, A., Ojagh, S. M., Adeli, A., and Abdollahi, M. 2016. Effect of TiO₂ nanoparticles on the physico-mechanical and ultraviolet light barrier properties of fish gelatin/agar bilayer film. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 88-95.
- 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: 50-55.
- Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M., and Hashemi, M. 2014. The improvement of characteristics of biodegradable films made from kefiran-whey protein by nanoparticle incorporation. *Carbohydrate Polymers*, 109, 118-125.

Effect of nanoclay addition on the properties of agar/fish gelatin bilayer film containing TiO₂ nanoparticles

S. M. Ojagh^{1*}, A. Vejdan¹, M. Abdollahi²

Received: 2016.07.17

Accepted: 2016.12.18

Introduction: Natural polymers have gained increasing attention for the development of packaging to reduce ecologically-related problems caused by plastic packaging (environmental pollution). Among these natural polymers, proteins such as gelatin is considered a good candidate for food packaging. However, several studies have shown that gelatin films are brittle, and their hydrophilic nature connotes high water vapor permeability and water solubility. Different solutions have been suggested to overcome these weaknesses, including adding crosslinking agents and chemical modification, adding nanoparticles and developing bio-film blends and bilayers with polysaccharides. Agar is a polysaccharide extracted from marine red algae, which is biocompatible, has good mechanical properties and possesses good film-forming properties. Preventing food spoilage from light and oxygen-induced oxidation is one of the greatest concerns in the food industry. Despite having good mechanical and relatively good water vapor permeability properties, protein- or polysaccharide-based films don't have sufficient barrier properties against oxygen and UV light that can't properly prevent the oxidation of food products. Among nanoparticles, metal oxides like TiO₂ (such as antiradiation and antimicrobial activities) and Montmorillonite (such as improved mechanical and barrier properties against moisture, WVP and gases) have evidenced good potential to improve functional properties of bio-films. Thus, the present study aimed to develop a new biodegradable bilayer agar/gelatin film incorporating nanoclay and TiO₂ for food packaging, with maximum water sensitivity and maximum UV light and oxygen barrier properties.

Materials and Methods: Agar/gelatin bilayer films were prepared by a two-step casting technique. First, the agar layer was produced by solubilization of 1.5 g of agar powder (agar-agar analytical grade were obtained from Merck Co., Germany) in 100 mL of distilled water. Then, glycerol (obtained from Merck Co., Germany) was added as plasticizer. The agar film-forming solution was casted onto petri-dish. In the next step, the gelatin (obtained from cold water fish skin was purchased from Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) solutions were prepared by dissolving 4 g of the fish gelatin in 100 mL of distilled water. Glycerol was also added as plasticizer. The TiO₂ dispersions (in ratios of 0 and 2% of the gelatin) and MMT (Na⁺-montmorillonite (in ratios of 0, 3, 5 and 10% of the gelatin)) were added to the gelatin solution and stirred and sonicated. Finally, produced solutions were then casted. The agar/gelatin films, with or without TiO₂ and MMT, were characterized using SEM analysis. Film transparency, water vapor permeability, water solubility, swelling, surface color and mechanical properties of the bilayer films were also examined.

Results and Discussion: In this study, bilayer films based on agar and gelatin incorporated with TiO₂-MMT nanoparticles have been successfully developed. Results demonstrated that some properties of the bilayer films were greatly influenced by TiO₂ and MMT nanoparticle content. So that, the addition of TiO₂ decreased water vapor permeability of the bilayers more than 15%, upon increasing TiO₂ content to 2%. However, swelling ratio and moisture content increased with the increase in the nano-TiO₂ content, probably due to the hydrophilic nature of the TiO₂ nanoparticles. Also, whiteness index (WI) increased by adding 2% of TiO₂ nanoparticles. As shown in the surface photograph of the bilayer films, TiO₂ generated more opaque and whiter films, which might be related to the white color of TiO₂ nanoparticles in solution form. Also, the addition of MMT (0, 3, 5, and 10%) to bilayer-2% TiO₂ significantly decreased water vapor permeability and transmission of UV light of the bilayer films. However, tensile strength (TS) decreased with further increase of the nanoparticle concentration. Increasing the concentration of nanoparticles' MMT to 5%, the tensile TS of the agar/gelatin films increased from 12.86 to 20.54 MPa; it might also be related to the interactions between sulphhydryl and carboxylic groups from certain amino acids in the gelatin structure with MMT and TiO₂ nanoparticles. However, the TS decreased again with further increase of the filler content up to 10% MMT. Also, the addition of MMT from 3%-10%

1. Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

2. Department of Biology and Biological Engineering-Food and Nutrition Science, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden.

(*Corresponding author: mahdi_ojagh@yahoo.com)

concentration significantly reduced the elongation at break value (EB) of the bilayer films from 41.77 to 28.90% for the bilayer films ($p < 0.05$). This might be related to the rigid nature of the nanoparticles, which restricts the motion of the gelatin matrix in terms of the strong interactions between the fillers and gelatin matrix which can reduce the EB of the polymeric matrix. Moreover, incorporating 2% TiO_2 and high concentration of MMT (especially 10%) reduced films' light transmission in UV light can be desirable for the food-packaging industry. Thus, results suggest that the bilayer films containing nano- TiO_2 -MMT may have potential for preservation of light-sensitive food. However, future studies on real food systems are required.

Keywords: Agar, Fish gelatin, Nanocomposite, Titanium dioxide, Nanoclay

تهیه ایزوله پروتئین لوبیا عروس و تعیین برخی خصوصیات عملکردی آن

سروناز اوصیا¹ - زینب رفتنی امیری^{2*}

تاریخ دریافت: 1395/05/03

تاریخ پذیرش: 1395/08/01

چکیده

ترکیبات شیمیایی آرد دانه لوبیا عروس (*Phaseolus Vulgaris var aroos beans*) که یکی از ارقام لوبیاست اندازه‌گیری شد. ایزوله پروتئین آن با استخراج قلبایی در pH=9/5 و ترسیب اسیدی در pH=4/5 بدست آمد. برخی خصوصیات عملکردی آن شامل ظرفیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی در pH 4، 7، 8 و 10 و تاثیر قدرت یونی نمک کلرید سدیم در غلظت‌های 0، 0/5 و 1 مولار مورد بررسی قرار گرفت. ایزوله پروتئین لوبیا عروس دارای درصد خلوص 89/06 درصد و بازده تولید 9 درصد بود. ظرفیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس در pH=7، به ترتیب 65 درصد و 42 درصد بود. مقدار این پارامترها با قرار گرفتن در ناحیه قلبایی و دور شدن از نقطه ایزوالکتریک افزایش یافت و بیشترین میزان در pH=10، به ترتیب 70/23 درصد و 77/33 درصد بدست آمد. در طی زمان 90 دقیقه، به تدریج از پایداری امولسیون و کف کاسته شد. با افزایش غلظت نمک کلرید سدیم، ظرفیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی کاهش معناداری پیدا کرد.

واژه‌های کلیدی: ایزوله پروتئین، ظرفیت امولسیون‌کنندگی، ظرفیت کف‌کنندگی، لوبیا عروس

(Boye et al., 2010).

مقدمه

ظرفیت امولسیون‌کنندگی با افزودن پیوسته روغن به سوسپانسیون رقیق پروتئین اندازه‌گیری می‌شود (Liu, 2004) درحالی که پایداری امولسیون مربوط به مقاومت آن در برابر تغییرات ساختاری (از قبیل انعقاد، خامه‌ای شدن، لخته شدن و ترسیب) و همچنین تغییراتی است که با گذشت زمان روی می‌دهند (Liu et al., 2008). کف پروتئینی متشکل از حباب گاز است که توسط فیلم مایع حاوی پروتئین‌های محلول با فعالیت سطحی، کپسوله شده است. پروتئین‌ها برای ایجاد کف بایستی در فاز مایع محلول بوده، در سطح مشترک هوا و آب تجمع یافته، جهت ایجاد لایه‌های پروتئین چسبنده در اطراف ذرات هوا باز شده و ویسکوزیته و قدرت مکانیکی کافی به منظور جلوگیری از تخریب و انعقاد داشته باشند (Fenema, 1996). پایداری سیستم توسط کاهش کشش بین سطح گاز- مایع و تشکیل لایه پروتئینی مقاوم در برابر پاره شدن و با کشش‌پذیری بالا در اطراف حباب‌ها و تغییر ویسکوزیته فاز مایع ایجاد می‌شود (Arema et al., 2007).

Sanchez -Vioque و همکاران (1999) پروتئین نخود را استخراج و ترکیب شیمیایی، خواص عملکردی و ویژگی‌های پروتئین آن را بررسی کردند. آنها دو نوع ایزوله پروتئین (با و بدون استفاده از سولفیت سدیم) از دانه‌های نخود به روش استخراج قلبایی در پی رسوب دادن اسیدی در نقطه ایزوالکتریک 4/3 بدست آوردند.

حبوبات پروتئین بیشتری (18 تا 50 درصد) نسبت به غلات (10 تا 15 درصد) دارند (Vadivel & Janardhanan, 2001). پروتئین‌های گیاهی بر اساس مقدار پروتئین، به سه دسته آردها با 50-65 درصد پروتئین، کنسانتره‌ها با 90-65 درصد پروتئین و ایزوله‌ها با بیش از 90 درصد پروتئین طبقه‌بندی می‌شوند (Gueguen, 1998). کنسانتره پروتئین از آرد بدون چربی از طریق خارج‌سازی قندهای محلول، فیبر محلول و ترکیبات جزئی به‌وسیله محلولهای الکلی آبی یا اسیدی رقیق در pH= 4-4/8 به‌دست می‌آید. ایزوله پروتئین در مقایسه با کنسانتره پروتئین تحت تأثیر مراحل تصفیه بیشتری قرار می‌گیرد تا پلی‌ساکاریدها، قندهای محلول و سایر ترکیبات جزئی آنها نیز استخراج شود (Alibhai et al., 2005).

علاوه بر خصوصیات تغذیه‌ای، پروتئین حبوبات به‌عنوان عامل عملگرا نقش مهمی در فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی دارند. حلالیت، ظرفیت اتصال آب، ظرفیت جذب چربی، خاصیت امولسیفایری و تولید کف از جمله خصوصیات عملکردی آنها است

1 و 2- به ترتیب دانشجوی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

(Email: zramiri@gmail.com)

* - نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/iffstrj.v1395i0.57744

تهیه آرد لوبیا عروس: ابتدا دانه لوبیا عروس توسط آسیاب صنعتی (توس شکن) آسیاب شد، سپس آرد حاصل برای یکنواختی ابعاد از الک با مش 60 عبور داده شد و در کیسه‌های پلاستیکی پلی‌اتیلنی مقاوم به نفوذ رطوبت و هوا بسته‌بندی شد و تا انجام آزمایشات در فریزر در دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه ایزوله پروتئین لوبیا عروس: ایزوله پروتئین لوبیا عروس بر اساس روش کیهانی و همکاران (1392) با اندکی تغییرات تهیه شد. پودر حاصله در شرایط غیر قابل نفوذ به رطوبت و هوا در کیسه‌های پلاستیکی پلی‌اتیلنی در فریزر 18- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایشات نگهداری شد.

بازده برحسب وزن رسوب به‌دست آمده به روش رواقی و همکاران (1391) از رابطه (1) محاسبه شد.

$$(1) \quad 100 \times (\text{وزن آرد مصرفی} / \text{وزن محصول تولیدی}) = \text{بازده تولید}$$

تعیین ترکیب شیمیایی

با استفاده از روش‌های استاندارد ملی ایران به شماره 6950 رطوبت، خاکستر و پروتئین و شماره 2862 چربی نمونه‌ها اندازه‌گیری شدند (استانداردهای ملی ایران شماره 6950، 1379 و شماره 2862، 1366). برای تعیین درصد پروتئین ایزوله آرد لوبیا عروس از دستگاه میکروکلدال اتوماتیک (اس-4، بهر، آلمان) استفاده شد و درصد نیتروژن خوانده شد و از فاکتور 6/25 برای تبدیل نیتروژن به پروتئین استفاده شد. محاسبه میزان کربوهیدرات نیز از طریق کسر درصد ترکیبات از 100 انجام شد (Horwitz, 2002).

ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون

محلول 1 درصد ایزوله پروتئین لوبیا عروس در pH=7 تهیه شد. سپس 10 میلی‌لیتر روغن مایع به 90 میلی‌لیتر محلول ایزوله فوق در حالی که نمونه توسط همزن مکانیکی در حال همزدن بود اضافه شد. بعد از 10 دقیقه اختلاط امولسیون روغن در آب حاصله توسط همزن مکانیکی، با استفاده از اولتراتوراکس (تی 25، آی کی ای، آلمان) با سرعت 11000 دور بر دقیقه به مدت یک دقیقه هموزن شد (امولسیون اولیه) و بلافاصله بعد از آن، به مدت 5 دقیقه در 1100xg سانتریفوژ شد و ظرفیت امولسیون‌کنندگی از رابطه (2) بدست آمد (Papalamprou et al., 2009).

(2) $100 \times (\text{ارتفاع کل محتویات در لوله سانتریفوژ} / \text{ارتفاع لایه امولسیون در لوله سانتریفوژ}) = \text{ظرفیت امولسیونی}$

برای اندازه‌گیری درصد پایداری، امولسیون اولیه، به مدت 30 دقیقه در دمای 80 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس به مدت 5

عامری شهرابی و همکاران (1390) خواص عملکردی و حرارتی کنسانتره و ایزوله پروتئین نخود و سویا را بررسی و با یکدیگر مقایسه نمودند. مقدار پروتئین کنسانتره و ایزوله پروتئین بدست آمده از آرد چربی گرفته نخود را به ترتیب 80 درصد و 88/6 درصد و کنسانتره و ایزوله پروتئین سویا را به ترتیب 83/1 درصد و 90/2 درصد اعلام نمودند. از نظر جذب آب و چربی تفاوت معنی‌داری بین پروتئین سویا و نخود مشاهده نشد. میزان تشکیل ژل و کف تمام نمونه‌ها با افزایش غلظت پروتئین افزایش یافت. ولی قدرت تشکیل کف پروتئین سویا به‌طور معنی‌داری بیش از پروتئین نخود بود.

Singh و Kaur (2005) با بررسی حلالیت ایزوله پروتئین نخودهای مختلف اظهار داشتند، با افزایش pH در محدوده اسیدی تا محدوده ایزوالکتریک حلالیت کاهش و بعد از آن حلالیت با بالا رفتن pH افزایش یافت. Kinsella (1981) در تحقیقی اظهار داشت قابلیت حل شدن نقش مهمی در خواص امولسیون‌کنندگی پروتئین ایفا می‌کند به‌طوری که هرچه قابلیت حل شدن پروتئین افزایش یابد، میزان امولسیون‌کنندگی آن افزایش می‌یابد. همچنین حضور نمک‌ها و pH خواص امولسیون‌کنندگی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. Zhang و همکاران (2006) خصوصیات تشکیل ژل ایزوله‌های پروتئین نخود را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که ایزوله پروتئین نخود در pH‌های مختلف و در حضور نمک‌های کلسیم و سدیم رفتارهای رئولوژیکی متفاوتی دارد.

لوبیا (*Phaseolus Vulgaris*) از نظر سطح زیر کشت جهانی مقام اول را در بین حبوبات داشته و در عین حال هفتمین محصول عمده غذایی جهان است. یکی از ارقام خاص لوبیا، لوبیا عروس (*Phaseolus Vulgaris var aroos beans*) است. آل حسینی و همکاران (1390) به کشت این لوبیا در نقاط خاصی از کشور (بجنورد) و همچنین محتوای بالای پروتئینی و پخت سریع آن در مقایسه با سایر ارقام لوبیا اشاره کرده‌اند. هدف از انجام این پژوهش تعیین ترکیب شیمیایی آرد و ایزوله پروتئین لوبیا عروس و ارزیابی برخی از خواص عملکردی آن مانند ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی، کف‌کنندگی و پایداری آن‌ها و همچنین بررسی تأثیر pH و قدرت یونی بر خصوصیات فوق است.

مواد و روش‌ها

دانه لوبیا عروس و روغن تصفیه شده سویا (اویلا) از فروشگاه ساری خریداری شد. پارافین و هگزان نرمال با درجه خلوص 95 درصد از شرکت پارس شیمی و سایر مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده با درجه خلوص تجزیه‌ای از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در طرح کاملاً تصادفی، آرد کامل و ایزوله پروتئین لوبیا عروس استخراج شد. درصد بازده و خلوص ایزوله پروتئین و همچنین نتایج کلیه آزمون‌ها بر مبنای میانگین سه تکرار گزارش شدند. میانگین‌ها جهت بررسی معنی‌دار بودن با نرم‌افزار SPSS نسخه 16 و بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد مقایسه شدند و به‌منظور ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار اکسل 2007 استفاده شد.

نتایج و بحث

در جدول 1 آنالیز ترکیبات شیمیایی آرد کامل لوبیا عروس و ایزوله پروتئین آن نشان داده شده است. مقایسه یافته‌ها با نتایج خسروی و همکاران (1392) نشان می‌دهد که آرد کامل لوبیا عروس نسبت به سایر انواع حبوبات دارای درصد رطوبت و کربوهیدرات بالاتر، پروتئین کمتر، چربی و خاکستر مشابه است. همچنین مقایسه نتایج ترکیب شیمیایی ایزوله پروتئین لوبیا عروس حاصله با نتایج پژوهش عامری شهبازی و همکاران (1390) نشان می‌دهد که این ایزوله از لحاظ درصد پروتئین، رطوبت و خاکستر مشابه ایزوله‌های نخود و سویا و از لحاظ درصد چربی مشابه ایزوله نخود و کمتر از ایزوله سویا بوده است.

جدول 1- آنالیز ترکیب شیمیایی آرد کامل و ایزوله پروتئین لوبیا عروس

نمونه	پروتئین (%)	رطوبت (%)	چربی (%)	خاکستر (%)	کربوهیدرات (%)
آرد کامل	20/43 ± 0/75	8/86 ± 0/059	3/75 ± 0/096	4/081 ± 0/14	62/86 ± 0/66
ایزوله پروتئین	89/06 ± 1/41	0/079 ± 0/001	0/88 ± 0/01	2/25 ± 0/107	7/72 ± 1/35

هریک از اعداد میانگین سه تکرار ± انحراف از استاندارد است

(1392) و اسدیپور و همکاران (1390) مطابقت داشت. فاکتورهای متعددی مانند ویسکوزیته، شکل فضایی پروتئین، اندازه ذرات، کشش سطحی در پایداری امولسیون موثرند. علت کاهش پایداری امولسیون با گذشت زمان می‌تواند به دلیل تماس بیشتر قطرات و در نتیجه لخته شدن و به هم پیوستن قطرات روغن باشد (اسدیپور و همکاران، 1390). ظرفیت امولسیون کنندگی ایزوله پروتئین نخود حاصل از روش قلیایی، توسط چندین محقق ارزیابی شده است. ظرفیت امولسیون کنندگی 63/7 درصد برای ایزوله پروتئین نخود که حاوی 84/4 درصد پروتئین بود، توسط Paredes-Lopez و همکاران (1991) گزارش شد. Boye و همکاران (2010) خصوصیات امولسیون کنندگی نخود، عدس و نخود فرنگی را با یکدیگر مقایسه کرده و گزارش کردند بالاترین فعالیت امولسیون کنندگی مربوط به پروتئین نخودهای کابلی و دسی بود. مقایسه ظرفیت امولسیون کنندگی در بین مطالعات مختلف به دلیل اثرات قابل

دقیقه در 1100×g سانتریفوژ شد. پایداری امولسیون در زمان صفر، 45 و 90 دقیقه بعد از سانتریفوژ از رابطه (3) بدست آمد (Papalamprou et al., 2009).

$$(3) \quad \text{حجم کل مخلوط حرارت دیده در لوله سانتریفوژ} / \text{حجم لایه امولسیون در لوله سانتریفوژ} = \text{پایداری امولسیون}$$

ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف

محلول 2 درصد ایزوله پروتئین لوبیا عروس در دمای محیط، به مدت 3 دقیقه توسط اولتراسونیکس با سرعت 19000 دور بر دقیقه مخلوط شد و درصد حجم کف تولید شده و پایداری آن در زمان صفر، 45 و 90 دقیقه بعد از سانتریفوژ از رابطه (4) محاسبه شد (Lin et al., 1974).

$$(4) \quad \text{ظرفیت کف} = \frac{\text{حجم کف قبل از مخلوط کردن}}{\text{حجم کف بعد از مخلوط کردن}} \times 100$$

و قیل از مخلوط کردن = فعالیت کف‌کنندگی

اثر pH و غلظت یونی محیط بر ظرفیت امولسیون کنندگی و کف‌کنندگی

ظرفیت امولسیون کنندگی و کف‌کنندگی نمونه‌ها مطابق روش مربوطه در pH 4، 8 و 10 و غلظت‌های نیم و یک مولار نمک کلرید سدیم اندازه‌گیری شد (اسدیپور و همکاران، 1390).

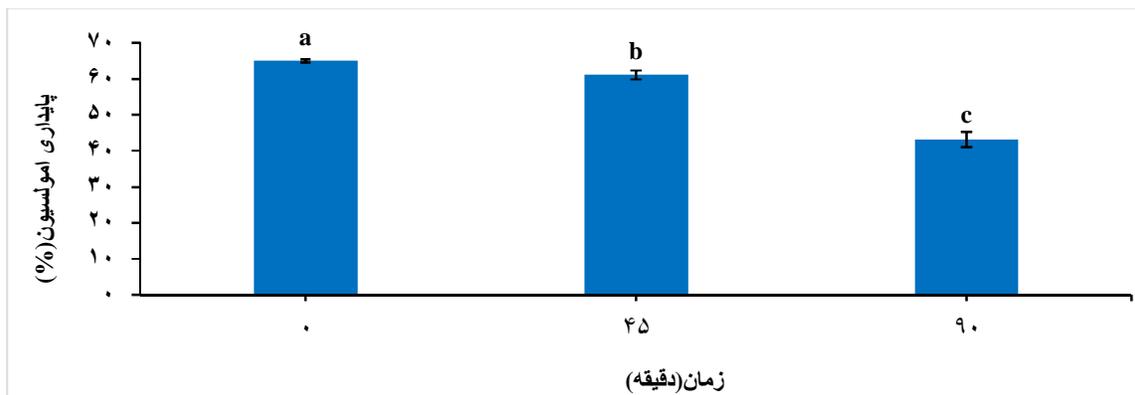
خلوص و بازده ایزوله پروتئین لوبیا عروس

خلوص ایزوله پروتئین لوبیا عروس تولیدی 89/06 درصد و بازده تولید 9 درصد بر اساس وزن ایزوله رسوبی به‌دست آمد. سایر محققان برای عدس خلوص 82 درصد و بازده 12 درصد و برای نخود خلوص 89 درصد و بازده 14/85 درصد اعلام نموده اند (Bora, 2002). بخشی مقدم و همکاران، (1392). همچنین ایزوله پروتئین لوبیا سفید به روش اسیدی در pH=4 با خلوص 95 درصد گزارش شد (Alli et al., 1993).

ظرفیت امولسیون کنندگی و کف‌کنندگی و پایداری

با توجه به شکل‌های 1 و 2 بیشترین پایداری امولسیون و پایداری کف در زمان صفر به ترتیب 65 درصد و 42 درصد بود و با گذشت زمان از میزان پایداری کف و پایداری امولسیون به‌طور معنی‌داری کاسته شد ($P < 0/05$)، که با نتایج پژوهش خسروی و همکاران

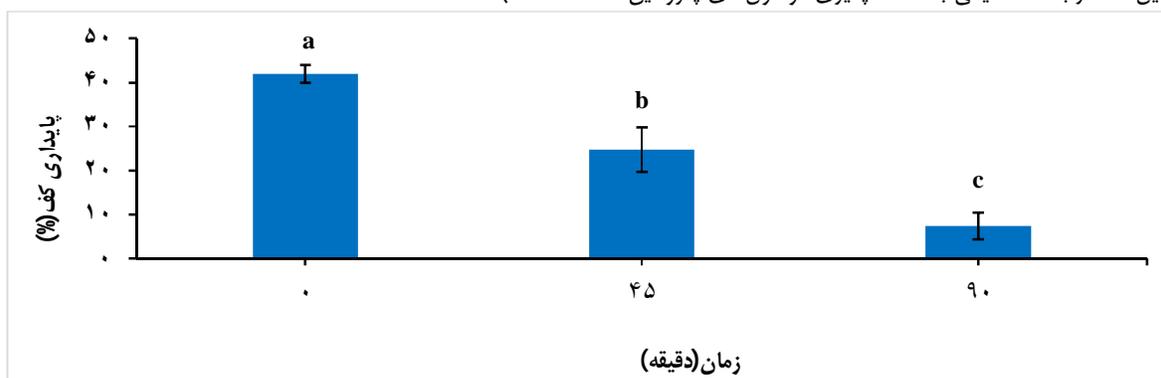
ملاحظه تغییرات جزئی روش‌های آزمایشگاهی بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی دشوار است (Kaur & Singh, 2007).



شکل 1- پایداری امولسیون ایزوله پروتئین لوبیا عروس
حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

درد که می‌تواند کشش سطحی را کاهش دهد. Kaur و Singh (2007) ظرفیت تولید کف ایزوله پروتئین نخود کابلی را 41-44 درصد گزارش نمودند. در تحقیق عامری شهرابی و همکاران (1390) مقادیر کف تشکیل شده از ایزوله نخود 71/2 درصد و ایزوله سویا 74/1 درصد گزارش شد. اختلاف در نتایج مطالعات گوناگون می‌تواند ناشی از اختلاف در خلوص پروتئین نمونه‌های مطالعه شده و همچنین شرایط استفاده شده جهت بررسی تولید کف باشد (Boye *et al.*, 2010).

پروتئین‌های عمده حبوبات نیز به طور طبیعی کروی شکل هستند، از این رو توانایی تشکیل کف کمتری دارند (Sathe & Salunkhe, 1981). طبق نظر Mwasaru و همکاران (1999) توانایی تشکیل کف و پایداری کف به‌عنوان یک ویژگی برای خصوصیت اختلاط‌پذیری کنسانتره‌ها و ایزوله‌های پروتئین مطرح است. به دلیل فعالیت سطحی پروتئین‌ها هنگام زدن، کف تشکیل می‌شود. از طرفی Sathe و Salunkhe (1981) بیان نمودند که تشکیل کف ارتباط مستقیمی با انعطاف‌پذیری مولکول‌های پروتئین



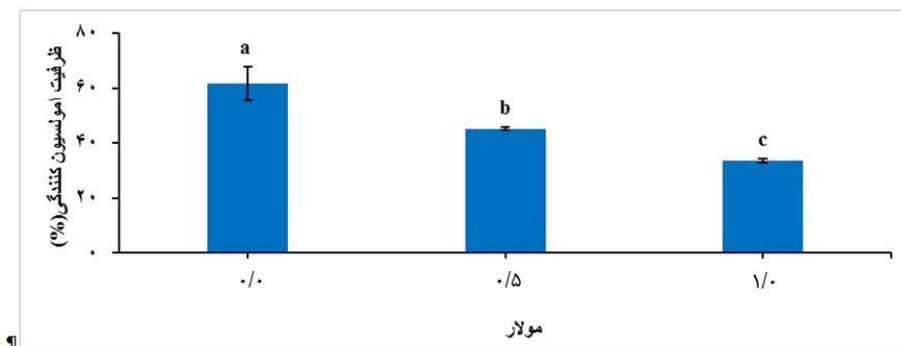
شکل 2- پایداری کف ایزوله پروتئین لوبیا عروس
حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

بصبری و همکاران (1390) نیز فعالیت امولسیون‌کنندگی آرد حرارت ندیده سویا از 53/4 درصد در غلظت یونی 1 مولار تا 8/8 درصد در قدرت یونی 2 مولار کاهش یافت. خاصیت امولسیفایری مولکول‌های پروتئین رابطه مستقیمی با قابلیت آنها در پایین آوردن کشش سطحی بین آب و روغن در امولسیون دارد و از سوی فعالیت سطحی پروتئین

تأثیر قدرت یونی بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس
با توجه به شکل 3، افزایش قدرت یونی محیط در غلظت‌های 0/5 و 1 مولار محلول کلرید سدیم تأثیر قابل توجه و معناداری بر کاهش ظرفیت امولسیون‌کنندگی داشته است ($P < 0/05$). در تحقیق

پروتئین‌های در دسترس، ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین‌ها کاهش یافته است. به عبارتی کم شدن حلالیت پروتئین منجر به عدم قابلیت نفوذ پروتئین‌ها به سطح تماس آب و روغن و نهایتاً کاهش ظرفیت امولسیون‌کنندگی شده است.

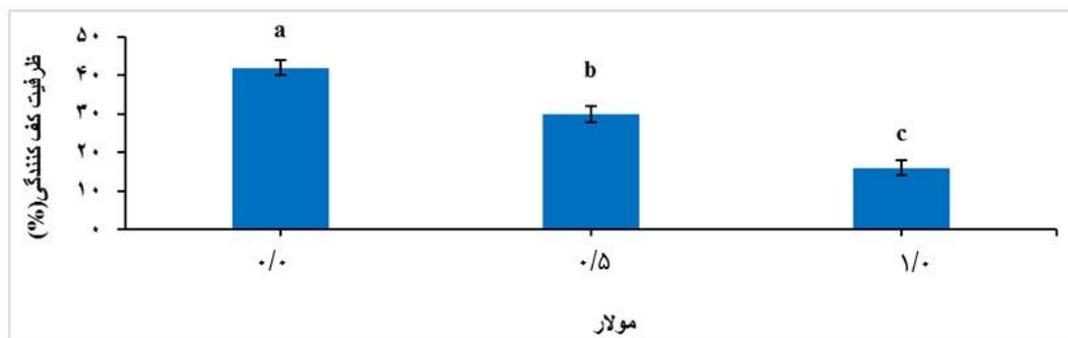
موجب مهاجرت آسان پروتئین، باز شدن و نوآرایی مجدد آن در لایه بین سطحی آب و روغن می‌شود (Ogungbenle, 2008). ظاهراً نمک در غلظت‌های آزمون شده در این پژوهش، فعالیت سطحی پروتئین را کاهش داده و به‌نظر می‌رسد در غلظت‌های بالاتر از 0/5 مولار نمک، به علت کم شدن حلالیت پروتئین و کم شدن



شکل 3- تاثیر کلرید سدیم بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس در pH خنثی
حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

ایزوله پروتئین در غلظت 0/5 و 1 مولار محلول کلرید سدیم نسبت به نمونه فاقد نمک است ($P < 0/05$).

تاثیر قدرت یونی بر ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس
شکل 4 حاکی از اختلاف معنی‌دار کاهش ظرفیت کف‌کنندگی



شکل 4- تاثیر کلرید سدیم بر ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس در pH خنثی
حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

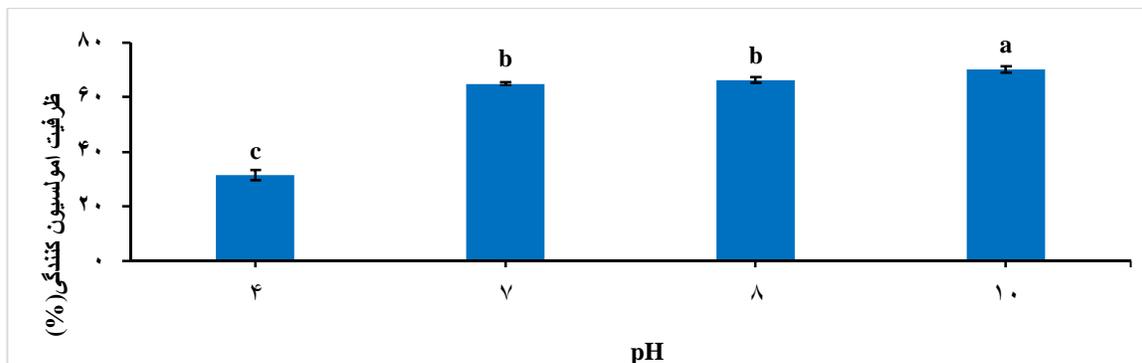
پروتئین - پروتئین و عمدتاً واکنش بین نواحی آب‌گریز روی سطح مولکول‌های پروتئین مجاور هم را افزایش داده و منجر به رسوب‌دهی پروتئین‌ها می‌شود (Bond, 1989)، لذا از آنجا که پروتئین‌ها برای ایجاد کف بایستی در محیط مایع محلول باشند تا بتوانند در سطح مشترک آب و گاز تجمع یابند، افزایش غلظت یونی محیط به علت کاستن از حلالیت پروتئین‌ها منجر به کاهش ظرفیت کف‌کنندگی شده است.

به‌نظر می‌رسد از آنجایی که 70 درصد پروتئین دانه‌های حبوبات را گلوبولین‌ها تشکیل می‌دهند و از سوی گلوبولین‌ها در آب محلول و در محلول‌های نمکی غیرمحلول هستند، با افزایش قدرت یونی محیط، از حلالیت کلی پروتئین‌ها کاسته شده و در نتیجه خصوصیات مرتبط با حلالیت از جمله کف‌کنندگی روند کاهشی یافته است. علت دیگر کاهش فعالیت کف‌کنندگی ممکن است به این دلیل باشد که در غلظت‌های بالاتر از 0/5 مولار نمک، مولکول‌های ایزوله پروتئین لوبیا و نمک برای آبگیری با هم رقابت می‌کنند. این رقابت‌ها واکنش

تاثیر pH بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس

ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس در pHهای مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند ($P < 0/05$). مطابق شکل 5 بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین در $pH=10$ و کمترین در $pH=4$ مشاهده شد. در این تحقیق پروتئین در $pH=4$ که نزدیک به نقطه ایزوالکتریکی است که کبهانی و مشکانی (1392) آن را برای لوبیا عروس $4/5$ تعیین کرده بودند، کمترین حلالیت را به

میزان $7/87$ درصد داشته که منجر به رسوب پروتئین‌ها و کاهش ظرفیت امولسیون‌کنندگی شده است. علت کاهش ظرفیت امولسیون‌کنندگی در محدوده نقطه ایزوالکتریکی به کاهش حلالیت پروتئین‌ها در آن نسبت داده می‌شود (Nasri & Tinay, 2007; Lawal et al., 2005). در حالی که فیضی و همکاران (1394) بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین شنبليله را در محدوده کاملاً اسیدی، $pH=3$ به میزان 39 درصد گزارش کردند.



شکل 5- تاثیر pH بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس
حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

کمترین در $pH=4$ به دست آمد. با تغییر pH از ایزوالکتریکی به سمت محدوده قلیایی ظرفیت کف‌کنندگی به مقدار قابل توجهی افزایش یافت. دلیل این موضوع احتمالاً افزایش بار خالص پروتئین در pH قلیایی است که واکنش‌های آبریزی را تضعیف نموده و با افزایش حلالیت و انعطاف‌پذیری پروتئین، پراکندگی را در فضای هوا-آب تسریع نموده و باعث به دام افتادن ذرات هوا و افزایش ظرفیت کف‌کنندگی شدند (Lawal و Adebawale, 2004). نتایج به دست آمده با نتایج Lawal و Adebawale (2004) و Nasri و Tinay (2007) مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری

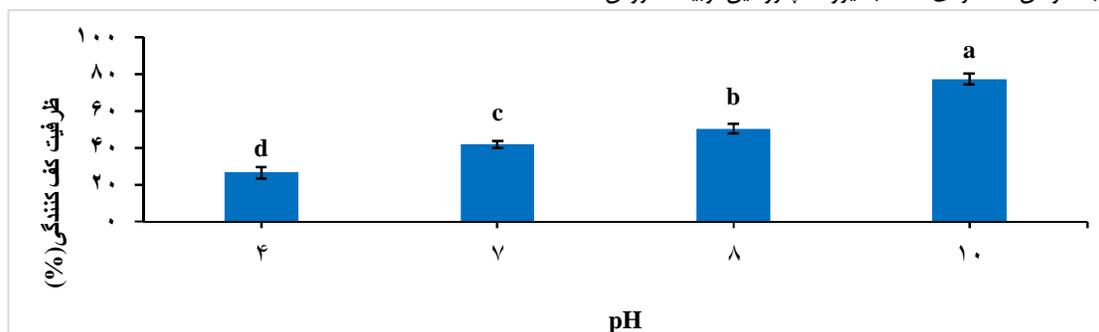
در بررسی نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی، درصد پروتئین موجود در آرد کامل لوبیا عروس کمتر از مقدار پروتئین گزارش شده برای سایر حبوبات بود، اما ایزوله پروتئین استخراج شده از لحاظ درصد خلوص پروتئین، مشابه سایر حبوبات آزمون شده در پژوهش‌های دیگر محققین ارزیابی شد. نتایج نشان داد که گذشت زمان و افزودن نمک کلرید سدیم تا غلظت 1 مولار، باعث کاهش ظرفیت‌های امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس و پایداری آن‌ها شد. تغییر pH به سمت محدوده قلیایی موجب بهبود ظرفیت

اختلاف معناداری در ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئینی در $pH=8$ با ظرفیت امولسیون‌کنندگی نمونه کنترل ($pH=7$) وجود نداشت و به ترتیب برابر $66/3$ درصد با قابلیت انحلال $70/96$ درصد و 65 درصد با قابلیت انحلال $62/19$ درصد بود. با دور شدن از نقطه ایزوالکتریکی و افزایش pH به سمت محدوده قلیایی و در محدوده pH استخراج، ظرفیت امولسیون‌کنندگی به میزان $70/23$ درصد رسید که ناشی از انحلال بیشتر پروتئین‌ها به میزان $77/1$ درصد در $pH=10$ و تقویت ظرفیت امولسیون‌کنندگی است. اینطور به نظر می‌رسد که در pH بالاتر از نقطه ایزوالکتریکی به دلیل منفی بودن بار پروتئین، ذرات پروتئین تحت تاثیر نیروی دافعه قرار گرفته و از یکدیگر دور شده و به صورت محلول باقی می‌مانند و کمتر رسوب می‌کنند و به همین علت خواص عملکردی بهتری دارند (Tinay و Nasri, 2007). نتایج این پژوهش با نتایج تحقیق Nasri و Tinay (2007) که بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی کنسانتره پروتئینی شنبليله را در $pH=12$ و Lawal و Adebawale (2004) که بیشترین میزان ظرفیت امولسیون‌کنندگی آرد سه نوع حبوبات را در $pH=10$ گزارش نمودند، مطابقت داشت.

تاثیر pH بر ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس مطابق شکل 6 بیشترین ظرفیت کف‌کنندگی در $pH=10$ و

می‌تواند به منظور استفاده در فرمولاسیون فرآورده های گوشتی، ویفر، بیسکویت، کراکر، سس، دسر و سوپ مورد تحقیق قرار گیرد.

امولسیون‌کنندگی و تشکیل کف شد، به طوری که نتایج نهایی با خصوصیات عملکردی حیوانی همچون نخود و سویا مشابه بود. لذا با توجه به خواص عملکردی مناسب ایزوله پروتئین لوبیا عروس،



شکل 6- تاثیر pH بر ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس
حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

منابع

- Adebowale, K.O. and Lawal, O.S. 2004. Comparative study of the functional properties of bambarra groundnut (*Voandzeia subterranean*), jack bean (*Canavalia ensiformis*) and mucuna bean (*Mucuna pruriens*) flours. *Food Research International*, 37(4): 355-365.
- Alehosseini, A., Tavakkolipoor, H., Tolooii, A. and Keyhani, V. 2011. Evaluation of effect of the moisture on physical properties of Aroos bean. *1th National Conference on Food Science and Technology*. Azad University of Ghochan.
- Alibhai, Z., Mondor, M., Moresoli, Ch., Ippersiel, D., and Lamarche, F. 2005. Production of soy protein concentrates/isolates: traditional and membrane technologies. *Desalination*, 191(1-3): 351-358.
- Alli, I., Gibbs, B.F., Okoniewska, M.K., Konishi, Y. and Dumas, F. 1993. Identification and characterization of phaseolin polypeptides in crystalline protein isolated from white kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 41:1830-1834.
- Ameri shahrabi, A., Badii, F., Ehsani, M., Maftoonazad, N. and Sarmadzadeh, D. 2011. Functional and thermal properties of chickpea and soy-protein concentrates and isolates. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 6 (3): 49-58.
- Arema, M. O., Olaofe, O. and Akintayo, E.T. 2007. Functional properties of some Nigerian varieties of legume seed flours and flour concentration effect on foaming and gelation properties. *Journal of Food Technology*, 5(2): 109-115.
- Assadpour, A., Jafari, S.M., Sadeghi mahoona, A. and Gorbani, M. 2011. Evaluation of emulsifying and foaming capacity of the legume flours and the influence of pH and ionic strength on these properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 7(1): 80-91.
- Bakhshi moghadam, F., Milani, E., Mortazavi, S.A. and Meshkani, S.M. 2013. Effect of extraction methods on functional properties of chickpea protein isolated. *Journal of Food Science and Technology*, 10(1): 11-20.
- Basiri, L. Sadeghi mahoona, A. Alami, M. and Ghorbani, M. 2011. Effect of heat on functional properties of soy bean flour. *Journal of Food Science and Technology*, 9(3): 119-127.
- Bond, J.S. 1989. Commercially Available Proteases, Appendix II. In: *Proteolytic Enzymes, A Practical Approach*. R.J. Beynon and J.S. Bond, eds., IRL Press, Oxford, U.K.
- Bora, P. S. 2002. Functional properties of native and succinylated lentil (*Lens culinaris*) globulins. *Food Chemistry*, 77: 171-176.
- Boye, J., Zare, F. and Pletch, A. 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *J. Food Research International*, 43: 414-431.
- Chau, C. F. and Cheung, P. 1998. Functional properties of flours prepared from three Chinese indigenous legume seeds. *Food Chemistry*, 61(4): 429-433.
- Feizi, S. Varidi, M. Zareh, F. Varidi, M.J. 2015. Effect of pH changes on functional properties of fenugreek protein isolate. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11(5): 521-534.
- Fenema, O.R. 1996. *Food Chemistry*, 3rd ed, Marcel Dekker Incorporation, USA.
- Gueguen, J. 1998. Overview on functional properties of grain legume components. *Grain Legumes*, 20(2): 13-14.
- Horwitz, W. 2002. *Official Methods of Analysis*, 17th ed., Association of Official Analytical Chemists, Inc.,

- Gaithersburg, USA.
- Iran international standard. 1987. Method of determination for total fat content cereals and cereal products, No.2862.
- Iran international standard. 2000. Cereal and cereal products- pea flour-specifications and test methods, No.6950.
- Kaur, M. and Singh, N. 2005. Studies on functional, thermal and pasting properties of flours from different chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Journal food chemistry*, 91, 403- 411.
- Kaur, M., and Singh, N. 2007. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chemists*, 102: 366–37.
- Keyhani, V. and Meshkani, S.M. 2013. Effect of physical properties of edible film that based on Beans Bride protein isolate. 2nd National Conference on Food Science and Technology of Ghochan.
- Khosravi, Y. Keramat, J. Hosseini, E. Keshavarz hedayati, A. and Mahmoodi, A. 2013. Evaluation on functional properties of Iranian native variety of legumes flour. *Food Technology and Nutrition*, 10(3): 73-80.
- Kinsella, J.E. 1981. Functional properties of soy proteins. *Journal of American Oil Society Chemists*, 56: 242-258.
- Lawal, O. S., Adebowale, K.O., Ogunsanwo, B.M. and Bankole, S. 2005. On the functional properties of globulin and albumin protein fractions and flours of African locust bean (*Parkia biglobosa*). *Food Chemistry*, 92(4): 681-691.
- Lin, M. J. Y., Humbert, E. S. and Sosulski, F. W. 1974. Certain functional properties of sunflower meal products. *Journal of Food Science*, 39: 368–370.
- Liu, K. 2004. Soybean as functional foods and ingredients. American Oil Chemist' Society press, U.S.A.
- Liu, C., Wang, H., Cui, Z., He, X., Wang, X., Zeng, X., and Ma, H. 2008. Optimization of extraction and isolation for 11S and 7S globulins of soybean seed storage protein. *Food Chemistry*, 102: 1310–1316.
- Mwasaru, A.M., Muhammad, K., Bakar, J. and Cheman, Y.B. 1999. Effect of isolation technique and conditions on the extractability, physiochemical and functional properties of pigeon pea (*Cajanus cajan*) and cow pea (*Vigna unguiculata*) protein isolates.II. *Functional properties. Food Chem*, 67: 445-52.
- Nasri, N. and Tinay, A.H. 2007. Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. *Food Chemistry*, 103, 582-589.
- Ogungbenle, H. N. 2008. Effects of Salt Concentrations on the Functional Properties of Some Legume Flours. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(3): 453-458.
- Papalamprou, E.M., Doxastakis, G.I. and Kiosseoglou, V. 2009 . Chickpea protein isolates obtained by wet extraction as emulsifying agent. *Journal of food science and Agriculture*, 90: 304–313.
- Paredes-Lopez, O., Ordorica-Falomir, C., and Olivares- azquez, M. R. 1991. Chickpea protein isolates: physicochemical, functional and nutritional characterization. *Journal of Food Science*, 56(3): 726–729.
- Ravaghi, M. Mazaheri tehrani, M. Asoodeh, A. 2012. Evaluation of changes in chemical and functional properties during production of soy protein concentrate from industrial soy flour. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 8(1): 16-25.
- Sanchez-Vioque, R., Clemente, A., Vioque, J., Bautista, J. and Millan, F. 1999. Protein isolates from chickpea: chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chem.*, 64: 237-43.
- Sathe, S.K. and Salunkhe, D.K. 1981. Functional properties of great northern bean proteins: emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. *J Food Science*, 46: 71-5.
- Vadivel, V. and Janardhanan, K. 2001. Nutritional and anti-nutritional attributes of the under-utilized legume, Cassia floribunda Cav. *Food Chemistry*, 73: 209-215.
- Zhang, T., Jiang, B. and Wang, Z. 2006. Gelation properties of chickpea protein isolates. *Food Hydrocoll*, 2: 280-86.

Preparation and characterization of some functional properties of Aroos bean (*Phaseolus Vulgaris*) protein isolate

S. Osia¹, Z. Raftani Amiri^{2*}

Received: 2016.07.27

Accepted: 2016.10.22

Introduction: The *Phaseolus Vulgaris* on a global scale of cultivation has been categorized in the first rank and considered as the seventh staple food in the world. Proteins are usually classified into 3 groups including flours with 50 to 65 percent protein, concentrate with 65 percent protein and isolates with over 90 percent protein. Protein concentrate is produced by defatted flour through removal of soluble sugars, soluble fiber and minor compounds by alcohol, water or diluted acid with pH around 4-4.8. Protein isolate is affected by further refining processes compared to protein concentrate. In addition to the importance of the nutritional properties, crop proteins have a key role as a functional agent in the formulation of food products. Solubility, water binding capacity, oil absorption capacity, emulsifying and foaming abilities are noticed as the main functional properties. One of the specific and unique varieties of beans is *Phaseolus Vulgaris var (arous bean)*. The aim of this study was to determine the chemical composition of flour and bean protein isolate. In addition, some of the functional properties such as emulsification properties, foaming and stability as well as the effect of pH and ionic strength on above-mentioned characteristics were investigated.

Materials and Methods: The seed of *Phaseolus Vulgaris* and refined soybean oil (Oila) were purchased from Sari local supermarket. *Phaseolus Vulgaris* protein isolate was extracted and obtained powder was kept in impervious polyethylene plastic bags against moisture and air and placed at -18 ° C until analysis. The efficiency was calculated based on the sediment. Also, chemical composition and purity of the isolates were determined. Some functional properties, including emulsifying properties and foaming capacity at pH 4, 7, 8 and 10 were tested; and impact of the ionic strength of NaCl in concentrations of 0, 0.5 and 1 molar were examined. The results of all treatments were expressed based on the average of triplicate. Means were subjected to analysis of variances (one way-ANOVA) using (SPSS Statistics version 16) software program. Differences among the mean values of the various treatments were determined by Duncan test and the significance was defined at $p < 0.05$. The graphs were drawn using Excel software.

Results and Discussion: *Phaseolus Vulgaris* had 9% protein isolate efficiency and purity of 89.06%. The amount of protein in *Phaseolus Vulgaris* flour was less than the amount of protein that has been reported for other crops. While in terms of purity, protein isolate was similar to legumes in other studies. Foaming ability and emulsifying properties of *Phaseolus Vulgaris* protein isolate at 7 = pH were 42% and 65%, respectively. The value of this parameter using exposure to alkaline region and keeping far from the isoelectric point at pH = 10 were risen to the highest amount of 70.23% and 77.33%, respectively. During 90 minutes, stability of emulsions and foams were gradually decreased. With increasing of NaCl concentrations, foaming capacity and emulsifying properties were significantly reduced. Considering the efficient functional of *Phaseolus Vulgaris* protein isolate, further investigation required in order to be used in the formulation of meat products, cakes, cookies, crackers, sauces and soups.

Keywords: Protein, Emulsifying properties, Foaming capacity, *Phaseolus Vulgaris var (arous bean)*

1 and 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)

ارزیابی ماندگاری گوجه‌فرنگی پرتودیده در ترکیب با پوشش پلی‌اتیلن به کمک تکنیک آکوستیک

حسینعلی تاش شمس‌آبادی^{1*} - سیده هدی یوسفیان² - آیت محمد رزداری³

تاریخ دریافت: 1395/06/24

تاریخ پذیرش: 1395/10/16

چکیده

در این پژوهش گوجه‌فرنگی با دزهای 0 (کنترل)، 0/5، 0/25 و 1 کیلوگری پرتودهی و با استفاده از پوشش پلی‌اتیلن بسته‌بندی شد. آزمایشات در هر 7 روز بر نمونه‌ها صورت گرفت. نتایج نشان داد که با گذشت زمان انبارداری 21 روز، نمونه پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری و در پوشش پلی‌اتیلن نسبت به نمونه شاهد و بدون پوشش به مقدار 22/53 و 12/34 درصد به ترتیب دارای جرم و جرم حجمی بیشتر و به میزان 26/58 درصد دارای فرکانس رزونانسی بیشتر است. همچنین این نمونه نسبت به نمونه پرتودهی شده با دز 1 کیلوگری و نمونه شاهد در پوشش پلی‌اتیلن به میزان 37/74 و 26/48 درصد دارای مدول الاستیسیته بیشتر و 25 و 18/12 درصد نیز دارای سفتی بیشتری است. با استفاده از نرم‌افزار SPSS، حداکثر نیروی نفوذ در آزمون مخرب رابطه نسبتاً قوی با پارامترهای بدست‌آمده از آزمون آکوستیک شامل فرکانس رزونانسی، ضریب استحکام، مدول الاستیسیته به ترتیب با ضرایب تبیین به مقدار 0/893، 0/913 و 0/886 داشت. با توجه نتایج، پرتودهی در ترکیب با پوشش پلی‌اتیلن روشی مناسب به‌منظور حفظ بافت گوجه‌فرنگی است و آکوستیک نیز روشی مناسب و جایگزین برای آزمون نفوذ است.

واژه‌های کلیدی: آکوستیک، پرتودهی گاما، پلی‌اتیلن، سفتی، گوجه‌فرنگی.

مقدمه

گوجه‌فرنگی پس از سیب‌زمینی دومین محصول سبزیجاتی مهم در دنیاست. امروزه گوجه‌فرنگی هم به‌صورت تازه و هم به‌صورت کنسروی در تولید آب گوجه‌فرنگی، رب، کچاپ و پوره مصرف می‌گردد (Lai et al., 2007). ایران با داشتن حدود 150 هزار هکتار سطح زیر کشت و تولید 5 میلیون و 800 هزار تن گوجه‌فرنگی در سال، هفتمین تولیدکننده این محصول در جهان به‌شمار می‌رود (FAO, 2014).

روش‌های معمول فرآوری و نگهداری مواد غذایی مانند استفاده از افزودنی‌ها و نگهدارنده‌ها و یا فرآیندهای گرمایی مانند پاستوریزاسیون موجب از دست‌رفتن ارزش غذایی، تغییر ویژگی‌های حسی و اثرات منفی بر سلامت مصرف‌کننده می‌شود. امروزه روش‌های فرآیند و نگهداری غیرستنی به سرعت در حال گسترش می‌باشد (اهری

مصطفوی و همکاران، 1390). از روش‌های مختلف نگهداری مواد غذایی از قبیل فرآیندهای مختلف حرارتی، مصرف مواد شیمیایی، دوددهی و پرتودهی به‌عنوان روش‌هایی برای حفظ مواد غذایی استفاده می‌کنند. با فرآوری مواد غذایی به روش پرتودهی اشعه گاما و نگهداری محصولات با اشعه‌دهی در حد مطلوب، مواد غذایی عاری از وجود باکتری‌های بیماری‌زا، مخمرها، کپک‌ها و حشرات شده و رسیدگی، پیری و جوانه‌زنی میوه‌ها و سبزی‌ها کنترل می‌شود. ترکیبات شیمیایی مواد غذایی در جهت بهبود کیفیت مواد غذایی تغییر پیدا کرده و در نهایت بعد از پرتودهی هیچگونه سمی در مواد غذایی باقی نمی‌ماند (Mawahib et al., 2014).

فرآیند بسته‌بندی موقعیت خاصی را در صنایع غذایی به‌خود اختصاص داده است. انتخاب مواد و سیستم‌های بسته‌بندی مناسب بخش جدایی‌ناپذیر در فرآوری غذا و طراحی محصول است (Emamifar et al., 2011). محققان در حال بررسی انواع متفاوتی از پلیمرها به‌عنوان فیلم پایه برای تولید این نوع بسته‌بندی هستند. پلی‌اتیلن با طیف گسترده‌ای از خواص فیزیکی در بسیاری از موارد کاربرد دارد. دلیل اساسی انطباق آن با کاربردهای گوناگون، در پیکربندی نیمه بلورین آن نهفته است که می‌تواند در کنترل متغیرهای مولکولی و فرآیندی باشد (Bruna et al., 2012). در

1- استادیار، گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

2- کارشناس ارشد، مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه بوعلی سینا همدان.

3- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه شهرکرد.

* - نویسنده مسئول: (Email: h.shamsabadi.gu@gmail.com)
DOI: 10.22067/iftstr.v1395i0.58861

سفتی حاصل از آزمون ضربه؛

- تأثیر ترکیبی سه‌گانه پوشش پلی‌اتیلن، زمان ذخیره‌سازی و دز پرتو دهی بر صفات اندازه‌گیری یادشده.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی و پرتو دهی نمونه گوجه‌فرنگی

گوجه‌فرنگی رقم روما مورد استفاده در این آزمایش از فروشگاه سازمان انرژی اتمی ایران خریداری گردید. به‌منظور انجام آزمایشات 300 عدد نمونه انتخاب و وزن متوسط نمونه‌ها 67 گرم بدست آمد و محصول پس از برداشت به مدت یک هفته در سردخانه با دمای 4 درجه سانتی‌گراد، به‌منظور جلوگیری از تغییرات شیمیایی و درون‌بافتی نگهداری شد. در انتخاب نمونه‌ها سعی شد تا حد ممکن از نظر شکل و اندازه یکسان باشند تا از تأثیر تغییرات حاصل از تفاوت اندازه آن‌ها کاسته شود. بر همین اساس ابعاد نمونه‌ها (سه قطر عمود بر هم) با کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری و ثبت شد. نمونه‌ها در کیسه‌های نایلونی استریل، به‌منظور پرتو دهی بسته‌بندی گردید. برای پرتو دهی نمونه‌ها از چشمه کبالت 60 (گاماسل 220) استفاده شد. نمونه‌ها با دزهای 0 (کنترل)، 0/25، 0/5 و 1 کیلوگری پرتو دهی، سپس به آزمایشگاه منتقل و در یخچال با دمای 1 ± 6 درجه سانتی‌گراد رطوبت نسبی 65 ± 4 درصد به مدت 21 روز نگهداری شدند. آزمایشات در هر 7 روز بر نمونه‌ها صورت گرفت (Mawahib et al., 2014).

بسته‌بندی پلی‌اتیلن

به‌منظور بسته‌بندی، پوشش پلی‌اتیلن با چگالی متوسط (ضخامت 0/3 میلی‌متر و عمق و عرض، به‌ترتیب 6/5 و 19 سانتی‌متر) از پژوهشگاه پلیمر ایران تهیه گردید.

جرم و جرم حجمی میوه

جرم نمونه‌های گوجه‌فرنگی با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0/01 گرم اندازه‌گیری شد. جرم حجمی نمونه‌ها نیز توسط روش جابجایی آب بدست آمد که در آن حجم محصول از تقسیم نیروی شناوری (جرم آب جابجاشده) بر دانسیته آب (رابطه 1) بدست آمد:

$$V = \frac{M_{dw}}{\rho_w} \quad (1)$$

آماده‌سازی تحلیل‌گر صوتی حاصل از اعمال ضربه

آزمایش‌های صوتی با استفاده از سامانه آزمون ضربه‌ای انجام گردید. این سامانه محفظه‌ای آلومینیومی و از داخل با چوب و ابرهایی پوشیده شده بود. سامانه از داخل مجهز به محل استقرار نمونه در کف، مکانیزم ضربه‌زن و دریافت‌کننده سیگنال بود. در این سامانه تحریک

بررسی انجام‌شده توسط سامی و مسعود (2007) آشکار شد که سیستم‌های مختلف بسته‌بندی بر زمان ماندگاری و کیفیت گوجه‌فرنگی در طول مراحل مختلف رسیدن تأثیرگذار است. گوجه‌فرنگی‌های سبز در بسته‌های پلی‌اتیلن در مجاورت با کلرید کلسیم، اسید بوریک و پرمنگنات پتاسیم بسته‌بندی شدند، که سبب بهبود عمر انبارداری تا بالای 96 روز در مقایسه با شاهد شد.

سیاری از ویژگی‌های پس از برداشت گوجه‌فرنگی مانند زمان ماندگاری و کیفیت خوراکی آن، وابسته به مناسب بودن زمان برداشت می‌باشند. بنابراین در صورتی که امکان تعیین کیفیت درونی محصول فراهم گردد، می‌توان به‌طور غیرمستقیم زمان برداشت محصول را پیش‌بینی نمود. روش‌های متداول برای بررسی کیفیت درونی میوه‌ها شامل بصری، حسی و یا روش مخرب می‌باشند (Studman, 2001). یکی از روش‌های مورد استفاده برای ارزیابی کیفیت درونی و یا رسیدگی میوه‌هایی مانند گوجه‌فرنگی، بررسی رفتار صوتی آن‌ها است. ضمناً تکنیک‌های غیرمخرب مبتنی بر آنالیز سیگنال‌های صوتی، برای ارزیابی کیفیت درونی میوه‌هایی مثل سیب، گلابی، آووکادو، خربزه و هندوانه استفاده شده‌اند (Shmulevich et al., 2003, Yurttas et al., 2014). از جمله خصوصیات مهم مکانیکی گوجه‌فرنگی، سفتی بافت درونی آن می‌باشد که همبستگی زیادی با پارامترهای صوتی بافت دارد (Diezma et al., 2004, Sun et al., 2010).

استفاده از روش‌های صوتی - ارتعاشی علاوه بر تعیین کیفیت درونی هندوانه به‌منظور ارزیابی مقدار رسیدگی آن، برای ارزیابی نقص‌ها و خرابی‌های داخلی آن نیز قابل کاربرد است (Diezma et al., 2004). همچنین آنالیزهای کیفی انجام گرفته روی محصولات کروی شکل نشان داده است که بهترین سیگنال تولیدی زمانی به دست می‌آید که دریافت‌کننده فرکانس صوتی با فاصله‌ای معادل 0 و یا 180 درجه نسبت به محل اعمال ضربه قرار داشته باشد (Polder et al., 2002).

با توجه به کارآمد بودن روش پرتو دهی، پوشش‌دهی و همچنین بالابردن صرفه اقتصادی، ترکیب پرتو دهی و پوشش پلی‌اتیلن به‌منظور افزایش ماندگاری گوجه‌فرنگی تازه در انبارها و افزایش صادرات از اهداف اصلی این تحقیق به‌شمار می‌رود. اهداف فرعی نیز شامل موارد زیر است:

- تأثیر ترکیبی از پوشش پلی‌اتیلن و دز پرتو دهی بر جرم، جرم حجمی، ضریب استحکام، فرکانس رزونانسی، مدول الاستیسیته و سفتی حاصل از آزمون ضربه؛

- تأثیر ترکیبی از پوشش پلی‌اتیلن و زمان ذخیره‌سازی بر جرم، جرم حجمی، ضریب استحکام، فرکانس رزونانسی، مدول الاستیسیته و سفتی حاصل از آزمون ضربه؛

- تأثیر ترکیبی از زمان ذخیره‌سازی و دز پرتو دهی بر جرم، جرم حجمی، ضریب استحکام، فرکانس رزونانسی، مدول الاستیسیته و

تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همبستگی میان پارامترهای حاصل از ضربه و سفتی حاصل از آزمون نفوذ با استفاده از رگرسیون در نرم‌افزار Excell. 2013 بررسی شده و مدل مناسب جهت تعیین سفتی گوجه‌فرنگی بدست آمد.

نتایج و بحث

تغییرات جرم و جرم حجمی

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول 1)، اثرات اصلی از پرتودهی، پوشش پلی‌اتیلن و مدت زمان ذخیره‌سازی در سطح 1 درصد و اثرات متقابل تمامی آن‌ها بر روی تغییرات جرم در سطح 5 درصد معنی‌دار هستند. همچنین اثرات اصلی از پرتودهی، پوشش پلی‌اتیلن و مدت زمان ذخیره‌سازی به ترتیب در سطح 1 و 5 درصد و اثر متقابل آن‌ها در سطح 5 درصد بر روی متغیر جرم حجمی معنی‌دار شدند. با گذشت مدت زمان انبارداری و افزایش مقدار دز پرتودهی، جرم و جرم حجمی نمونه‌ها در طول 21 روز کاهش یافته است. با گذشت زمان انبارداری 21 روز، نمونه پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری و در پوشش پلی‌اتیلن نسبت به نمونه شاهد و بدون پوشش به مقدار 22/53 و 12/34 درصد دارای جرم و جرم حجمی بیشتر است. کاهش جرم به علت کاهش ماده خشک، فعالیت‌های متابولیکی، تنفس و تعرق رخ می‌دهد (Rosenthal, 1999). شدت تنفس در میوه‌ها و سبزیجات در اثر رسیدن افزایش می‌یابد که سبب کاهش ذخیره مواد غذایی محصولات و کاهش جرم می‌شود (شکل 1) (اهری مصطفوی و همکاران، 1390). از مهمترین عوامل کاهش در طی پرتودهی می‌توان به تلفات آب به دلیل جذب انرژی ناشی از امواج اشاره کرد (اهری مصطفوی و همکاران، 1390). همچنین طبیعت نفوذپذیری مواد بسته‌بندی رطوبت نسبی درون بسته‌ها را تغییر می‌دهد که منجر به کاهش اتلاف رطوبت و میزان تنفس محصول می‌شود. کاهش میزان تنفس سبب پایین آمدن درصد کاهش وزن محصول می‌شود (Kader and Watkins, 2000).

تغییرات فرکانس رزونانسی

بر طبق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول 1)، اثرات اصلی از پرتودهی، پوشش پلی‌اتیلن و مدت زمان ذخیره‌سازی به ترتیب در سطح 1 و 5 درصد و اثر متقابل آن‌ها در سطح 5 درصد بر روی فرکانس رزونانسی حاصل از اعمال ضربه معنی‌دار بودند. با توجه به نتایج نمونه پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری و در پوشش پلی‌اتیلن نسبت به نمونه شاهد بدون پوشش و نمونه پرتودهی شده با دز 1 کیلوگری، فرکانس رزونانسی به میزان 26/58 و 14/10 درصد بیشتر حاصل شد (شکل 2).

جرم میوه یکی از پارامترهای مهم تأثیرگذار بر فرکانس رزونانسی

صوتی نمونه‌های با کمک ضربه انجام شد. با اعمال ضربه به سطح نمونه، سیگنال صوتی به درون نمونه ارسال گردیده و سپس توسط یک گیرنده (میکروفون) که در فاصله 7 میلی‌متری نسبت به نمونه قرار داده شده بود، میزان سیگنال‌های خروجی اندازه‌گیری شد. ارتفاع قرارگیری نمونه طوری تنظیم شد که در صورت قرارگیری نوک ضربه‌زن چوبی روی سطح آن، زاویه میله ضربه‌زن نسبت به سطح افق 15 درجه باشد. در این تحقیق میزان فاصله عمودی ضربه‌زن تا سطح میوه 142/30 میلی‌متر و میزان شدت ضربه وارده $10/036 \text{ kg mm s}^{-1}$ بدست آمد. در نهایت سیگنال‌های صوتی بدست آمده توسط نرم‌افزار تحلیل فرکانس (Sound Analyzer) تجزیه و تحلیل شد. با استفاده از فرکانس تشدید و با توجه به رابطه (2) ضریب استحکام گوجه‌فرنگی محاسبه گردید (Mami et al., 2014).

$$S = f^2 \cdot m^{\frac{2}{3}} \quad (2)$$

که در این رابطه $S =$ ضریب استحکام، $f =$ فرکانس تشدید (Hz) و $m =$ جرم نمونه (g) می‌باشد.

با توجه به تحقیقات صورت گرفته ضریب استحکام و مدول الاستیسیته ارتباط معنی‌داری با سفتی نمونه‌ها دارد (Galili, and Baerdemaeker, 1996). پس از تعیین فرکانس رزونانسی، مدول الاستیسیته از رابطه (3) محاسبه شد (Cooke and Rand, 1973):

$$EC = f^2 m^{\frac{2}{3}} \rho^{\frac{1}{3}} \quad (3)$$

که، EC مدول الاستیسیته (Pa) و ρ جرم حجمی (kg/m^3) می‌باشد.

آزمون نفوذ

به منظور بررسی سفتی نمونه، نمونه‌ها از نقطه مقابل محل ضربه با دستگاه اینسترون مدل (STM) مورد آزمون نفوذ قرار گرفتند. بدین منظور از یک پروب به قطر 8 میلی‌متر با سرعت حرکت پروب 20 میلی‌متر بر دقیقه استفاده گردید. حداکثر عمق نفوذ 10 میلی‌متر در نظر گرفته شد. حداکثر نیروی نفوذ به‌عنوان سفتی نمونه مورد استفاده قرار گرفت (Tamure and Teryaki, 2012).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های بدست‌آمده با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه فاکتور دز پرتودهی (0، 0/5، 1 کیلوگری)، زمان نگهداری (0، 7، 14 و 21 روز) و پوشش بسته‌بندی (بدون پوشش و پلی‌اتیلن) می‌باشد و در 5 تکرار به اجرا در آمد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS.20 مورد

دارای بالاترین میزان جرم و جرم حجمی، و دارای بالاترین میزان فرکانس رزونانسی هستند.

تغییرات مدول الاستیسیته و ضریب استحکام

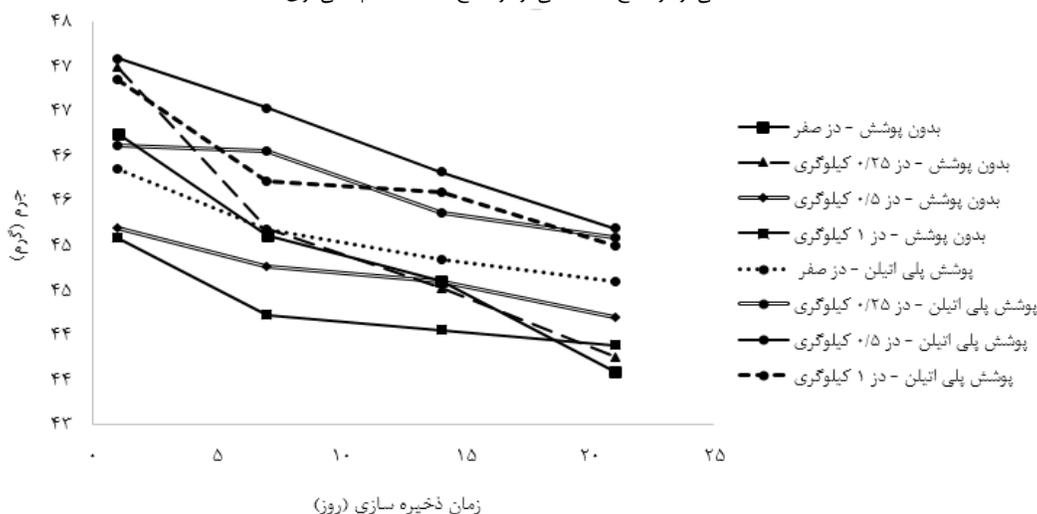
بر طبق نتایج جدول تجزیه واریانس تأثیر دز پرتودهی و پوشش پلی‌اتیلن بر روی متغیرهای وابسته (جدول 1)، اثرات اصلی دز پرتودهی، پوشش پلی‌اتیلن و مدت زمان ذخیره‌سازی در سطح 5 درصد معنی‌دار شده و اثرات متقابل آن‌ها بر روی متغیر مدول الاستیسیته در سطح 5 درصد معنی‌دار شد. نمونه پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری و در پوشش پلی‌اتیلن که دارای بهترین نتایج بود، نسبت به نمونه پرتودهی شده با دز 1 کیلوگری و نمونه شاهد در پوشش پلی‌اتیلن به میزان 37/74 و 26/48 درصد دارای مدول الاستیسیته بیشتری است (شکل 3).

میوه می‌باشد. اما با توجه به اینکه تغییر وزن می‌تواند مستقل یا وابسته به اندازه میوه تغییر کند، بر این اساس رابطه فرکانس و جرم حجمی مورد بررسی قرار گرفت. وانگ و همکاران (2006) بیان کردند که کیوی‌هایی با سفتی نسبتاً یکسان دارای جرم حجمی نزدیک به هم هستند. در نتیجه با ثابت بودن جرم حجمی، کیوی‌های با وزن بیشتر دارای حجم بیشتر نیز بوده و از این رو صوت با سرعت بیشتری میرا می‌شود که منجر به کاهش فرکانس و دامنه آن شد. با توجه شکل (2) که میانگین تغییرات فرکانس رزونانسی را تحت تأثیر دز پرتودهی و پوشش پلی‌اتیلن نشان می‌دهد، با افزایش دز پرتودهی تا 1 کیلوگری، جرم کاهش یافته و جرم حجمی نیز کاهش می‌یابد و در نتیجه صوت در زمان کوتاه‌تر میرا شده و فرکانس رزونانسی و دامنه کاهش می‌یابد (Mawahib et al., 2014). اما در مقابل پوشش پلی‌اتیلن از کاهش جرم و جرم حجمی در نمونه‌ها جلوگیری کرده و بهترین ترکیب از دز پرتودهی و پوشش پلی‌اتیلن، نمونه‌های پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری در پوشش پلی‌اتیلن

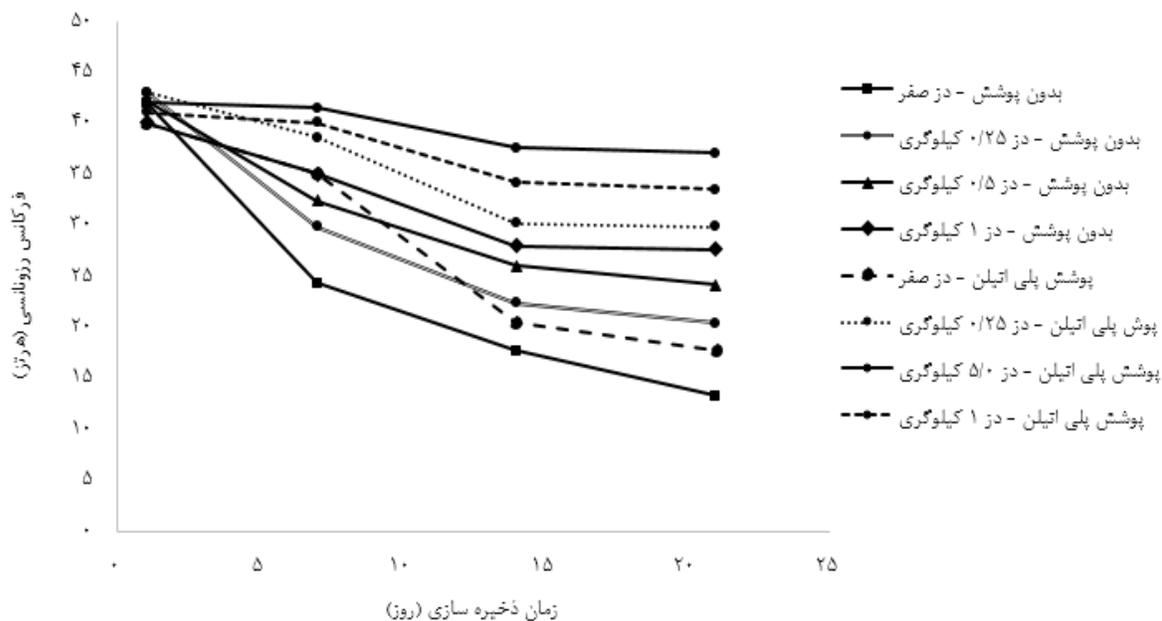
جدول 1- تجزیه واریانس اثر دز پرتودهی، پوشش پلی‌اتیلن و زمان ذخیره‌سازی روی متغیرهای وابسته

منابع تغییرات	درجه آزادی	جرم	جرم حجمی	فرکانس رزونانسی	مدول الاستیسیته	ضریب استحکام	سفتی
پرتودهی (P)	3	42/15**	1024**	49/31**	76/41*	78/64*	53/18*
پوشش دهی (C)	1	34/73**	1327*	50/61*	80/82*	81/37*	49/70**
زمان ذخیره‌سازی (T)	3	36/45**	1009*	48/43*	81/91*	79/34**	48/40**
C × P	3	37/35**	1009*	43/73*	79/01 ^{n.s}	75/13*	46/64*
T × P	9	43/14*	1037*	43/17*	77/30*	79/36*	48/03*
T × C	3	40/23**	1423**	47/33*	77/37**	78/42*	48/90*
T × C × P	3	38/07*	1239*	45/63*	79/31*	76/21*	47/63*
خطا	48	0/003	0/007	0/006	0/007	0/006	0/004
ضریب تغییرات (%)	-	3/21	1/71	4/37	5/12	4/63	4/34

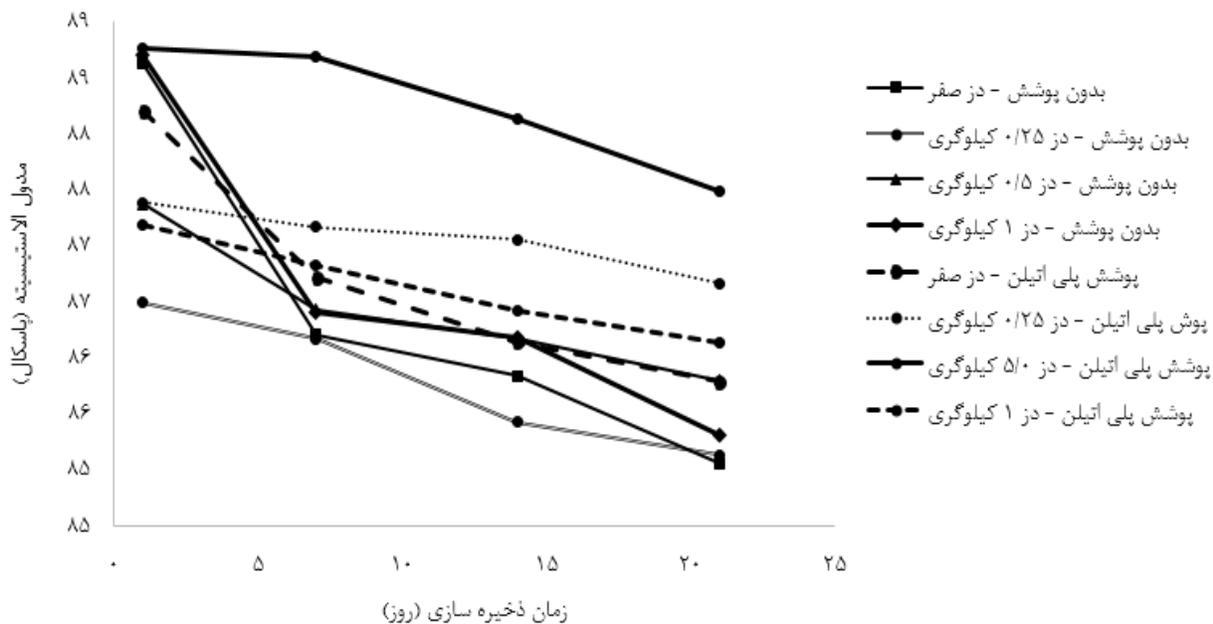
** معنی‌دار در سطح 1%، * معنی‌دار در سطح 5%، n.s عدم معنی‌داری



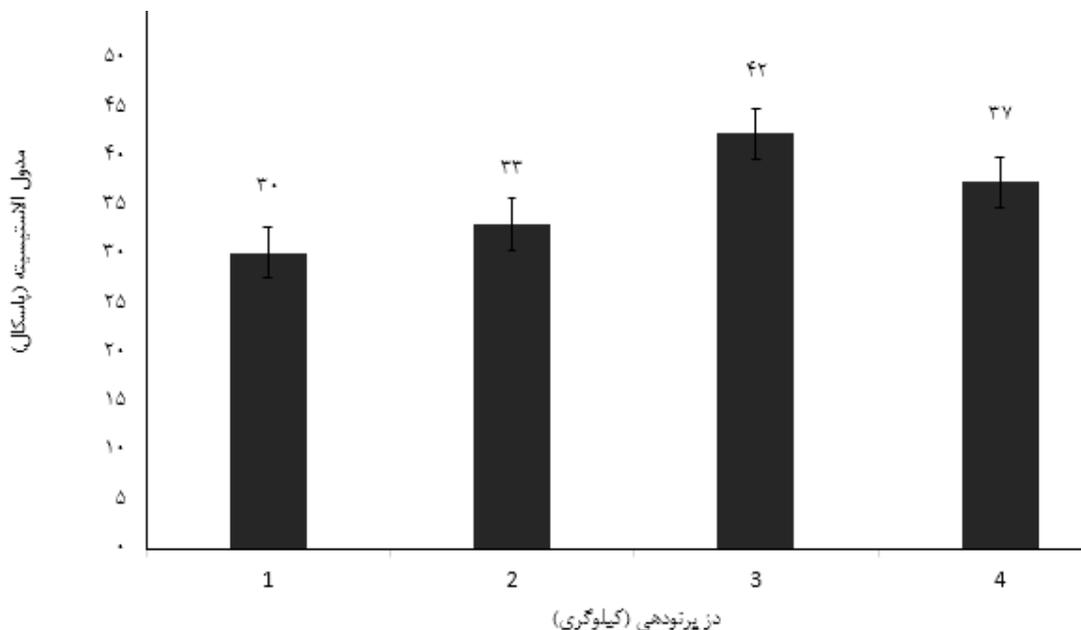
شکل 1- میانگین تغییرات جرم تحت تأثیر دز پرتودهی و پوشش پلی‌اتیلن در زمان نگهداری 21 روز



شکل 2- میانگین تغییرات فرکانس رزونانسی تحت تأثیر دز پرتودهی و پوشش پلی اتیلن در مدت زمان نگهداری 21 روز



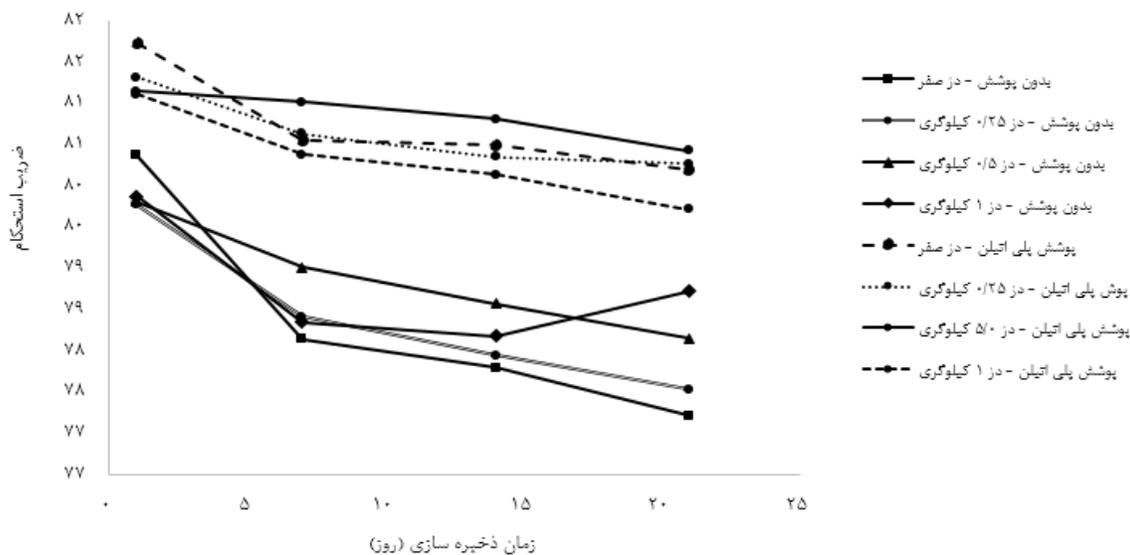
شکل 3- میانگین تغییرات مدول الاستیسیته تحت تأثیر دز پرتودهی و پوشش پلی اتیلن در مدت زمان 21 روز نگهداری



شکل 4- میانگین تغییرات مدول الاستیسیته تحت تأثیر دز پرتودهی

می‌یابد، و وانگ و همکاران (2006) به نتایج مشابهی رسیدند. با افزایش دز پرتودهی تا دز 0/5 کیلوگری، سفتی حفظ شده، و همچنین پوشش پلی اتیلن نیز به دلیل جلوگیری از تبخیر سطحی و حفظ آب موجود های بین دیواره‌های سلولی سفتی حفظ شده و ضریب استحکام و مدول الاستیسیته نیز حفظ می گردد (شکل 5) (Camelo and Gomez, 2004).

همچنین با توجه به جدول (1)، اثرات اصلی و متقابل دز پرتودهی و پوشش پلی‌اتیلن در سطح 5 درصد، اثر اصلی مدت زمان ذخیره سازی در سطح 1 درصد و اثرات متقابل آن‌ها در سطح 5 درصد بر روی متغیر ضریب استحکام معنی دار شد. با توجه به نتایج رابطه‌ای مستقیم بین مدول الاستیسیته، ضریب استحکام و سفتی وجود دارد و با افزایش سفتی، ضریب استحکام و مدول الاستیسیته نیز افزایش

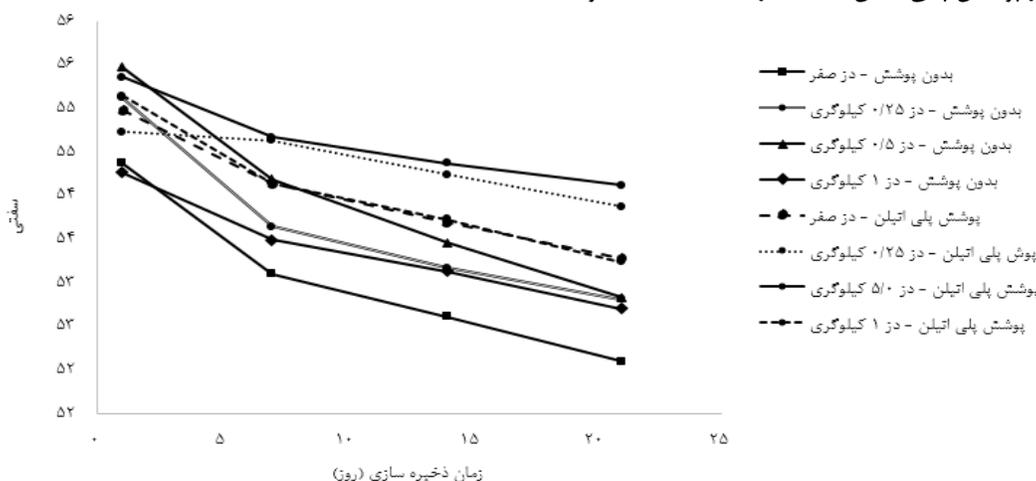


شکل 5- میانگین تغییرات ضریب استحکام تحت تأثیر دز پرتودهی و پوشش پلی اتیلن در مدت زمان 21 روز نگهداری

تغییرات سفتی

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول 1)، اثرات اصلی دز پرتودهی در سطح 5 درصد، اثر اصلی پوشش پلی‌اتیلن و مدت زمان ذخیره‌سازی نیز به ترتیب در 1 درصد و همچنین اثر متقابل آن‌ها نیز در سطح 5 درصد بر روی متغیر سفتی معنی‌دار شدند. با توجه به نتایج در دز پرتودهی 0/5 کیلوگری و به همراه پوشش پلی‌اتیلن، نمونه 25 درصد نسبت به نمونه شاهد بدون پوشش و 18/12 درصد نیز نسبت به نمونه پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری و بدون پوشش پلی‌اتیلن سفتی بیشتر است. همچنین نمونه‌های پرتودهی شده با دز 1 کیلوگری در پوشش پلی‌اتیلن، 12/32 درصد نسبت به نمونه

پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری در پوشش پلی‌اتیلن دارای سفتی کمتر است (شکل 6). دلیل این امر این است که با افزایش میزان دز پرتودهی، به دلیل تلفات آب و جذب انرژی ناشی از امواج محصول نرم‌تر شده و سفتی درون بافتی را از دست می‌دهد. با گذشت زمان ذخیره‌سازی، بافت نمونه، سفتی اولیه خود را از دست می‌دهد. علت نرم شدن نمونه‌ها در طی مدت زمان نگهداری، پیرشدن بافت و لایه‌های بین بافتی می‌باشد که این مواد موجب تماس و چسبیدن سلول‌ها به هم می‌شوند و در نتیجه کاهش استحکام محصول را به دنبال خواهد داشت (Majzoobi et al., 2009).



شکل 6- میانگین تغییرات سفتی تحت تأثیر دز پرتودهی و پوشش پلی‌اتیلن در مدت زمان 21 روز نگهداری

تعیین رابطه بین سفتی و فرکانس رزونانسی

نتایج حاصل از رگرسیون، همبستگی و رابطه خطی مناسب بین سفتی و فرکانس رزونانسی در گوجه‌فرنگی حاصل از اعمال ضربه و آزمون نفوذ را نشان می‌دهد. در تحقیقی که بر روی گلابی صورت گرفت بیان گردید که با افزایش جرم حجمی، میوه متراکم‌تر شده و صوت با سرعت بیشتری از میوه آن عبور می‌کند و در نتیجه فرکانس رزونانسی میوه‌ها افزایش می‌یابد (شکل 7) (Gomez et al., 2005). رابطه بین سفتی و فرکانس رزونانسی در تیمار پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری در پوشش پلی‌اتیلن که دارای بهترین نتایج بود به صورت جدول (2) بیان شده است.

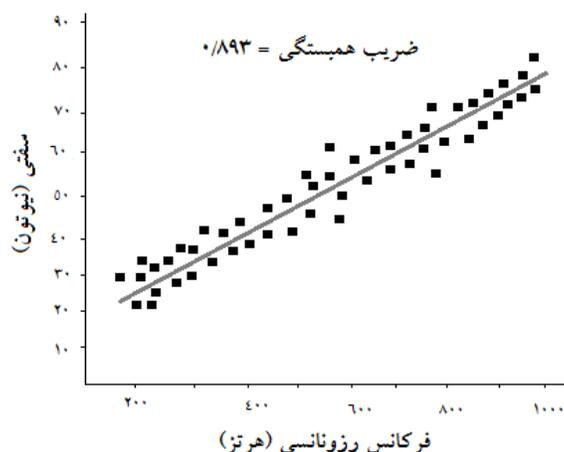
تعیین رابطه بین سفتی و ضریب استحکام

با توجه به نتایج رابطه‌ای مستقیم و خطی بین سفتی حاصل از آزمون نفوذ و ضریب استحکام بدست آمده از آزمون ضربه؛ و به دلیل رابطه مستقیم ضریب استحکام با مجذور فرکانس رزونانسی؛ با افزایش ضریب استحکام، سفتی نیز افزایش یافت. همچنین محققان نیز گزارش دادند که با افزایش سفتی میزان ضریب استحکام افزایش یافته است (Gomez et al., 2005). با توجه به نتایج رابطه بین سفتی و ضریب استحکام برای نمونه گوجه‌فرنگی پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری و در پوشش پلی‌اتیلن در جدول (3) بیان شده است.

جدول 2- مدل‌های رگرسیونی با ضرایب آماری رابطه بین سفتی و فرکانس رزونانسی برای نمونه قرار داده شده در پوشش پلی‌اتیلن

تیمار	مدل	همبستگی
کنترل (0 کیلوگری)	$F = 0.963 \cdot f + 2.39$	$R = 0.739$
0/25 کیلوگری	$F = 0.870 \cdot f + 2.51$	$R = 0.801$
0/5 کیلوگری	$F = 0.102 \cdot f + 3.06$	$R = 0.893$
1 کیلوگری	$F = 0.703 \cdot f + 2.16$	$R = 0.810$

F= سفتی (نیوتون) و f= فرکانس رزونانسی (هرتز)



شکل 7- نمونه‌ای از نمودار رابطه فرکانس رزونانسی و سفتی در نمونه‌های گوجه‌فرنگی پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری و پوشش پلی‌اتیلن

جدول 3- مدل‌های رگرسیونی با ضرایب آماری رابطه بین سفتی و ضریب استحکام برای نمونه قرار داده شده در پوشش پلی‌اتیلن

همبستگی	مدل	تیمار
$R = 0.853$	$F = 0.00012 .SC^2 + 0.000038 SC + 0.79$	کنترل
$R = 0.809$	$F = 0.00043 .SC^2 + 0.000103 SC + 2.67$	0/25 کیلوگری
$R = 0.913$	$F = 0.00053 .SC^2 + 0.00041 SC + 3.78$	0/5 کیلوگری
$R = 0.880$	$F = 0.00013 .SC^2 + 0.00009 SC + 2.06$	1 کیلوگری

F=سفتی (نیوتون) و SC=ضریب استحکام

مدول الاستیسیته برای نمونه گوجه‌فرنگی پرتودهی شده با دز 0/5 کیلوگری و در پوشش پلی‌اتیلن در جدول (4) بیان شده است.

تعیین رابطه بین سفتی و مدول الاستیسیته

با افزایش سفتی، میزان مدول الاستیسیته نیز افزایش یافت و رابطه‌ای خطی بین این دو پارامتر وجود دارد. رابطه بین سفتی و

جدول 4- مدل‌های رگرسیونی با ضرایب آماری رابطه بین سفتی و مدول الاستیسیته برای نمونه قرار داده شده در پوشش پلی‌اتیلن

همبستگی	مدل	تیمار
$R = 0.851$	$F = 0.000050 .EC^2 + 0.00031 .Ec + 3.10$	کنترل
$R = 0.837$	$F = 0.000017 .EC^2 + 0.00048 .Ec + 2.19$	0/25 کیلوگری
$R = 0.886$	$F = 0.000081 .EC^2 + 0.00070 .Ec + 4.79$	0/5 کیلوگری
$R = 0.784$	$F = 0.000073 .EC^2 + 0.00050 .Ec + 3.64$	1 کیلوگری

F=سفتی (نیوتون) و EC=مدول الاستیسیته

ترکیب پوشش پلی‌اتیلن به همراه زمان ذخیره‌سازی 21روز بر روی تغییرات جرم و جرم حجمی، ضریب استحکام، فرکانس رزونانسی، مدول الاستیسیته و سفتی حاصل از آزمون ضربه، تغییرات حاصل از ذخیره‌سازی را کاهش داده است.

ترکیب زمان ذخیره‌سازی 21روز و دز پرتودهی 0/5 کیلوگری بر روی تغییرات جرم و جرم حجمی، ضریب استحکام، فرکانس رزونانسی، مدول الاستیسیته و سفتی حاصل از آزمون ضربه را حفظ کرده است.

تأثیر ترکیبی سه‌گانه پوشش پلی‌اتیلن، زمان ذخیره‌سازی 21روز

نتیجه‌گیری

پرتودهی کاربردهای مختلفی در صنعت غذا داشته و در افزایش صادرات محصولات غذایی نقش عظیمی را داراست. با توجه به یافته‌های تحقیق نمونه پرتودهی شده با دز پرتودهی 0/5 کیلوگری و در پوشش پلی‌اتیلن دارای بهترین نتایج بوده است.

ترکیب پوشش پلی‌اتیلن به همراه دز پرتودهی 0/5 کیلوگری بر روی تغییرات جرم و جرم حجمی، ضریب استحکام، فرکانس رزونانسی، مدول الاستیسیته و سفتی حاصل از آزمون ضربه دارای بهترین نتایج بود.

و دز پرتودهی 0/5 کیلوگری بر صفات اندازه‌گیری یادشده دارای بهترین نتایج بوده و کیفیت را افزایش داده است. با توجه به نتایج تحقیق، با پرتودهی نمونه گوجه‌فرنگی با دز مناسب 0/5 کیلوگری و با استفاده از پوشش پلی‌اتیلن می‌توان آن را با تغییرات کمی در سفتی و بافت برای مدت زمان 21 روز و شاید بیشتر نگهداری کرد، که این موجب افزایش عمر ماندگاری در انبار، کاهش هزینه‌های نگهداری در انبار به روش‌های متعارف و افزایش صادرات می‌گردد.

منابع

- اهری مصطفوی، ه.، میرمجلسی، م.، میرجلیلی، م.م.، فتح‌اللهی، ه.، منصوری پور، م. و بابائی، م.، 1390، تأثیر پرتودهی گاما بر رشد باکتری پتی‌سالیوم آکپانسیم در پس از برداشت محصولات. مجله علوم و فنون هسته‌ای سازمان انرژی اتمی ایران، دوره 4، شماره 58، 49-54.
- Bruna, J.E., Peñaloza, A., Guarda, A., Rodríguez, F. & Galotto, M.J., 2012, Development of MtCu₂+LDPE nanocomposites with antimicrobial activity for potential use in food packaging. *Applied Clay Science*, 58, 79-87.
- Camelo, A.F.L. & Gomez, P.A., 2004, Comparison of color indexes for tomato ripening. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 22 (3):534-537.
- Cooke, J. R., Rand, R. H., 1973, A mathematical study of resonance in intact fruits and vegetables using a 3-media elastic sphere model. *Journal of Agricultural Engineering*, 18: 141-1
- Diezma-Iglesias, B., Ruiz-Altisent, M. & Barreiro, P., 2004, Detection of internal quality in seedless watermelon by acoustic impulse response. *Biosystems Engineering* 88: 221-230.
- FAO, 2014. www.Faostat.org
- Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M. & Soleimanian-Zad, S., 2011, Effect of nano composite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. *Food Control*, 22(3-4), 408-413.
- Galili, N., & De Baerdemaeker, J., 1996, Performance of acoustic test methods for quality evaluation of agricultural products. In: ISMA Conference, *Leuven*, Belgium.
- Gomez, A. H., Wang, J., & Pereira, A.G., 2005, Impulse response of pear fruit and its relation to Magness -Taylor firmness during storage. *Journal of Postharvest Biology and Technology*, 35: 209-215.
- Kader, A. A., & Watkins, C. B., 2000, Modified atmosphere packaging toward 2000 and beyond. *Hort. Technol.* 10(3):483-6.
- Lai, A., Santangelo, E., Soressi, G.P. & Fantoni, R., 2007, Analysis of the main secondary metabolites produced in tomato (*Lycopersicon esculentum*, Mill) epicarp tissue during fruit ripening using fluorescence techniques.
- Majzoubi M., Farahnaky, A. & Ostovan, R., 2009, Effect of microcrystalline cellulose and hydroxyl propyl methyl cellulose on the properties of dough and flat bread (Iranian Barbari bread). *Iran Agricultural Research*.
- Mami, Y., Peyvast, G., Ziaie, F., Ghasemnezhad, M., & Salmanpour, V., 2014, Improvement of shelf life and postharvest quality of white button mushroom by electron beam irradiation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(4), 1673-1681.
- Mawahib Y. Adam, Hind A. & Elbashir Abdel Halim, R., 2014, Effect of Gamma Radiation on Tomato Quality during Storage and Processing. *Journal of Biological Sciences*, 6(1): 20-25.
- Polder, G., VanDerHeijden, G.W.A.M Young, I.T., 2002, Spectral image analysis for measuring ripeness of tomatoes. *Transactions of the ASAE*, 45(4): 1155-1161.
- Rosenthal, A.J., 1999, Relation between instrumental and sensory measures of food texture, in Food texture: measurement and perception (ed. A.J. Rosenthal), Aspen Publishers, Inc., *Maryland*, pp.1-17.
- Sami, S. & Masoud T., 2007, Effect of different packaging systems on storage life and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* var. Rio Grande) during different ripening stages. *Internet Journal of Food Safety*, Vol.9, 2007, p. 37-44.
- Shmulevich, I., Galili, N. Howarth, M. S., 2003, Nondestructive dynamic testing of apples for firmness evaluation. *Postharvest Biology and Technology* 29: 2287-299.
- Studman, C. J., 2001, Computers and electronics in postharvest technology- A review. *Computers and Electronics in Agriculture* 30: 109-124.
- Sun, T., huang, K. Xu H. Ying, Y., 2010, Research advance in nondestructive determination of internal quality in watermelon/melon: A review. *Journal of Food Engineering* 100: 569-577.
- Tamure, C., & Teryaki, O., 2012, Irradiation alone or combined with other alternative treatment to control postharvest diseases. *African Journal of Agricultural Research*, 8: 421-434.
- Wang, J., Teng, T., & Yu, Y., 2006, The firmness detection by excitation dynamic characteristics for peach. *Food Control*, 17: 353-358.
- Yurtas, Z. S., Moreira, R. G., & Castell-Perez, E., 2014, Combined vacuum impregnation and electron-beam irradiation treatment to extend the storage life of sliced white button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Food Science*, 79(1), 39-46.

Firmness evaluation of irradiated tomato in combination with Polyethylene coat using Acoustic technique

H. A. Tash-Shamsabadi^{1*}, S.H. Yoosefian², A. Mohammad-Razdari³

Received: 2016.09.14

Accepted: 2017.01.05

Introduction: Tomato is one of the most important vegetable crops in Iran and is grown commercially in every state in the country. Tomatoes are climacteric in nature and climacteric fruits submitted to gamma irradiation exhibit a delay of ripening. In the specific case of tomatoes, irradiation generally delays ripening when the treatment is applied at the pre-climacteric stage. Mechanical properties are very important quality property in tomato. Determination of the storage time effect on the evolution of this quality is a desirable objective for producers, distributors and marketing agencies, who need reliable firmness measuring instruments for commercial purpose. Previous studies carried out by different researchers show that impact techniques can be used to evaluate firmness of fruits successfully. Quick and nondestructive methods for measuring texture are critical for controlling postharvest quality of crops and fruits. Polymer films are ubiquitous in the food industry, fulfilling a range of functions including a significant role in reducing food waste. Also, it can be possible to extend shelf-life with some coatings, including polymer films.

Materials and Methods: In this study, tomatoes were irradiated in Atomic Energy Organization of Iran. For irradiation of samples, cobalt 60 (Gamma Cell 220) was used. The samples were irradiated with doses of 0 (control), 0.25, 0.5 and 1 kG, then transferred to the laboratory and kept in a refrigerator at 6 ± 1 ° C and 65 ± 4 % relative humidity for 21 days. In order to pack, polyethylene film with medium density (thickness of 0.3 mm and depth and width, respectively, 6.5 and 19 cm) were obtained from the Iranian Polymer Research Institute. Experiments were performed on samples coated with polyethylene film in 7 days intervals. Acoustic tests were performed using Impact Test System. The system was covered with aluminum chamber and inside with wood and clouds. The system was internally equipped with the sample location on the floor, the impact mechanism and the receiver of the signal. In this audio excitation system, samples were taken with the help of a blow. By applying a blow to the sample surface, the audio signal was sent to the sample and then measured by a receiver placed at a distance of 7 mm from the sample. The experiments were performed every 7 days. During the experiment period, the physical and mechanical properties of the samples were measured. Data were analyzed using SPSS.20 software. Correlation between hit parameters and firmness of penetration test were checked out using regression in Excell .2013 software, and predicted a suitable model for determining the firmness of tomato.

Results and Discussion: The results showed that after 21 days of storage time, the amount of mass and density for irradiated sample with a 0.5 kGy dose in polyethylene film compared to control sample (uncoated) decreased to 22.53 and 12.34 %, respectively, and had more resonant frequency to 26.58%. Also, irradiated sample with a 0.5 kGy dose in polyethylene film compared to samples irradiated with doses of 1 kg and non-irradiated samples in polyethylene film had higher modulus of elasticity and firmness to 37.74, 26.48 % and 25% and 18.12%, respectively. The maximum penetration force in destructive testing had strong relationship with the parameters obtained from Acoustic test such as resonant frequency, Strength index and Modulus of elasticity with a correlation coefficient to 0.893, 0.913 and 0.886, respectively. Combination of polyethylene film with 0.5 kG irradiation on the changes in mass and volume, strength coefficient, resonance frequency, elasticity modulus and rigidity obtained from the impact test have the best results. Also, combination of polyethylene coating and 21-day storage time on mass and volume changes, strength coefficient, resonant frequency, elasticity modulus and stiffness from the impact test reduced the storage performance. According to the results of this study, by irradiation of a sample of tomatoes with a 0.5 kG and using a polyethylene film, it can be stored with a slight change in stiffness and texture for a period of 21 days, and possibly more, which causes increase the shelf-life in

1. Assistant Professor, Department of Biosystem Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

2. Graduated Master Student, Department of Biosystem Engineering, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.

3. Ph.D. student, Department of Biosystem Engineering, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

(*Corresponding Author Email: h.shamsabadi.gu@gmail.com)

the warehouse, reduce storage costs in the warehouse by conventional methods and increase the possibility to export. As a summing up, irradiation in combination with Polyethylene films is a good way to preserve tomatoes tissue and Acoustic textures is a useful way to be replaced with Penetration test.

Keywords: Acoustic, Gamma Irradiation, Polyethylene, Firmness, Tomatoes.

اثر روش‌های استخراج بر میزان ترکیبات فنولیک و خصوصیات ضد میکروبی عصاره برگ گیاه اناریجه (*Pimpinella affinis*)

الهام شکوه صارمی¹ - محمدباقر حبیبی نجفی^{2*} - محمد حسین حدادخداپرست² - معصومه بحرینی³

تاریخ دریافت: 1395/07/13

تاریخ پذیرش: 1395/12/08

چکیده

افزایش تقاضا برای افزودنی‌های ایمن منجر به افزایش استفاده از ترکیبات ضد میکروب طبیعی شده است. از آنجایی که سبزیجات برگی منبع خوبی از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی هستند، این مطالعه با هدف بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاه اناریجه (*pimpinella affinis*) که با روش‌های مختلف ماسراسیون، استفاده از سیال فوق بحرانی و استفاده از اولتراسوند استخراج شده بود، انجام شد. حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌ها با استفاده از روش میکروداپلوشن برای سوبه‌های میکروبی لیستریا مونوسی‌توزن، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آیروزنز و اشریشیاکلی میکروبی تعیین شد. فراکسیون ترکیبات فنولی با استفاده از دستگاه LC-MS تعیین شد. مقادیر فنول کل عصاره‌ها بین 1502/25-1836/69 (mgGA/100gE) بود. نتایج نشان داد روش استخراج با اولتراسوند بالاترین میزان ترکیبات فنولی را داشت. کمترین و بیشترین مقادیر MIC و MBC به ترتیب به عصاره‌های استخراج شده با روش اولتراسوند و روش فوق بحرانی تعلق داشت. استافیلوکوکوس اورئوس حساس‌ترین باکتری و اشریشیاکلی و سودوموناس آیروزنز مقاومترین باکتری‌ها بودند. عصاره اناریجه به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از قبیل گالیک اسید، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، کامپفرول و آپیجنین دارای فعالیت ضد میکروبی است و می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب ضد میکروبی طبیعی مورد استفاده قرار بگیرد.

واژه‌های کلیدی: اناریجه، اولتراسوند، ماسراسیون، فوق بحرانی، روش‌های استخراج، فعالیت ضد میکروبی

مقدمه

و قارچ‌ها تهیه شوند. مطالعات گوناگون نشان دهنده اثرات ضد میکروبی ترکیبات گیاهی در محصولات غذایی است (Cowan, 1999; Gyawali & Ibrahim, 2012; Hayek et al., 2013). از سوی دیگر بروز مقاومت دارویی در انواع ریزسازواره‌ها نیاز مستمر در زمینه شناسایی ترکیبات ضد میکروبی جدید، جهت به حداقل رسانیدن مقاومت دارویی ریزسازواره‌ها و استفاده از آن‌ها به‌عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی را دو چندان نموده است (Celik et al., 2007). عصاره‌های گیاهی به دلیل دارا بودن ترکیبات ضد میکروبی، ضد اکسایشی و عوامل حذف‌کننده رادیکال آزاد، توانایی بالایی برای به‌کارگیری به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی را دارا هستند (Tajkarimi et al., 2010; Hussain et al., 2008). اناریجه⁴ گیاهی است یکساله با ارتفاع 20-110 سانتی‌متر که در مناطق مختلف عراق، سوریه و نواحی مرکزی و شمالی ایران، رشد می‌کند و دارای گل‌های سفید و میوه‌های بیضی شکل است (Bozin et al., 2006). این گیاه دارای خاصیت ضد میکروبی بوده (Mozaffarian, 1996) و در طب

بیماری‌های مرتبط با مواد غذایی یکی از بزرگترین نگرانی‌های مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان مواد غذایی است که منجر به افزایش توجه به استفاده از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی و در نتیجه بهبود کیفیت و افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی شده است. از سوی دیگر نگرانی مصرف‌کنندگان در مورد نگهدارنده‌های سنتزی مورد استفاده در مواد غذایی؛ که منجر به اثرات سرطانزایی، مشکلات گوارشی، نارسایی‌های کبد و ضعف سیستم ایمنی در بدن می‌شود، باعث افزایش تقاضا برای ترکیبات ضد میکروبی طبیعی شده است (Tajkarimi et al., 2010). ترکیبات ضد میکروب طبیعی می‌توانند از منابع گوناگون مانند گیاهان، حیوانات، باکتری‌ها، جلبک‌ها

1 و 2 - به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

3 - استادیار، گروه زیست، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

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

DOI: 10.22067/food.v1396i0.59302

دی‌اکسیدکربن فوق بحرانی در دمای 35°C ، فشار 100 اتمسفر به مدت 30 دقیقه و با استفاده از دستگاه (Suprex MPS/225 Multipurpose) انجام شد. از متانول به‌عنوان حلال تعدیل‌کننده استفاده شد. عصاره استخراج شده بعد از تبخیر حلال توسط روتاری اواپراتور (45°C)، در دمای 18°C - نگهداری گردید (Tachakittirungrod et al., 2007).

روش اولتراسوند

20 گرم نمونه پودر شده گیاه اناریچه با ترازو توزین شد و با 100 میلی‌لیتر حلال (1:5) اتانول - آب به نسبت حجمی (50:50) مخلوط گردید و در حمام اولتراسوند (Elmas model 690/H) به مدت 30 دقیقه و 35°C و فرکانس 35 کیلوهرتز قرار گرفت و حلال اضافی با استفاده از روتاری اواپراتور (45°C) تبخیر شد. عصاره تغلیظ شده تا زمان استفاده در فریزر با دمای 18°C - نگهداری شد (Goli et al., 2005).

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

در این روش مقدار 0/5 میلی‌لیتر از عصاره با 5 میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالچوکه به نسبت 1 به 10 با آب مقطر رقیق شده بود، مخلوط گردید. سپس 4 میلی‌لیتر سدیم کربنات (1 مولار) به آن اضافه شد و به مدت 15 دقیقه در حمام آبی با دمای 45°C قرار گرفتند تا فاز آبی گسترش یابد و سپس جذب آن در 765 نانومتر توسط اسپکتروفتومتر UV-Vis خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از گالیک اسید استفاده شد و مقدار فنول نمونه‌ها با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی ($Y = 1.02x + 0.431$) بر اساس میلی‌اکی‌والان اسید گالیک بر گرم عصاره بیان شد (Albu et al., 2004).

تهیه محلول‌های میکروبی

سویه‌های میکروبی لیستریا مونوسیژنوز¹ (ATCC19112)، استافیلوکوکوس اورئوس² (ATCC25923)، سودوموناس آبروژنز³ (ATCC9027) و اشریشیا کلی⁴ (ATCC25922) میکروبی به‌صورت آمپول‌های لیوفیلیزه از کلکسیون بانک میکروبی سازمان پژوهش‌های ایران (IROST⁵) تهیه و توسط محیط کشت TSB⁶ احیا شدند. بعد

ستنی از آن به‌عنوان ضدنفخ، ضدعفونی‌کننده، ضداسپاسم و ادرار آور استفاده می‌شود (Gulcin et al., 2003). برای استخراج عصاره از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که از آن جمله می‌توان به تقطیر، ماسراسیون، خیساندن، استخراج با فشار، مایکروویو، سیال فوق بحرانی و استفاده از امواج اولتراسوند اشاره نمود. روش ماسراسیون نیاز به حلال بسیار زیادی دارد و منجر به آلودگی محیط زیست می‌شود. استخراج با سیال فوق بحرانی که با استفاده از یک سیال بی اثر، غیرقابل اشتعال و غیر سمی مانند دی‌اکسیدکربن انجام می‌شود؛ روش دوستدار محیط زیست است. روش استخراج با کمک امواج اولتراسوند یکی از روش‌های نوین استخراج ترکیبات فعال است که علاوه بر کاهش زمان استخراج، با ایجاد پدیده کاویتاسیون، منجر به نفوذ حلال به درون بافت‌های گیاهی می‌شود و راندمان استخراج را افزایش می‌دهد (Razavi & Esmaeilzadeh kenari, 2016). هدف از این مطالعه بررسی اثر روش‌های مختلف استخراج بر فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ گیاه اناریچه و شناسایی ترکیبات موثره عصاره بود.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان و سیگما آلدیج خریداری شدند و همگی از درجه HPLC برخوردار بودند. گیاه اناریچه بعد از جمع‌آوری از رویشگاه‌های طبیعی این گیاه در استان مازندران توسط بخش گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه ساری مورد تایید قرار گرفت. سپس در محیط خشک و تاریک به دور از نور خورشید و در جریان هوا خشک شد و با آسیاب بصورت پودر درآمد و توسط الک با مش 80 (800 میکرون) الک شد و تا زمان استفاده در کیسه پلی اتیلنی دو لایه تیره در یخچال با دمای 4°C نگهداری شد.

استخراج عصاره برگ اناریچه

روش ماسراسیون

به‌طور خلاصه 20 گرم پودر گیاه اناریچه به نسبت 1 به 5 (100 گرم پودر گیاه اناریچه و 500 میلی‌لیتر حلال) با حلال اتانول: آب به نسبت حجمی (50:50) به مدت 48 ساعت در شیکر با سرعت 1600 دور در دقیقه ترکیب شد تا عصاره استخراج شود. حلال اضافی به وسیله روتاری اواپراتور (دمای 45°C) تبخیر و تا زمان استفاده در فریزر با دمای 18°C - نگهداری شد (Tabanca et al., 2007).

روش فوق بحرانی

10 گرم از نمونه پودر شده گیاه اناریچه به نسبت 1 به 10 با حلال اتانول: آب (50:50) مخلوط شد. عصاره‌گیری توسط

1 *Listeria monocytogenes*

2 *Staphylococcus aureus*

3 *Pseudomonas aeruginosa*

4 *Escherichia coli*

5 Iranian Research Organization for Science and Technology

6 Tryptic Soy Broth

تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری

میزان 5 میکرولیتر از چاهک‌های روش MIC که رشد باکتری‌ها در آن‌ها کاملاً متوقف شده بود به محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل شد و کشت سطحی انجام شد. پلیت‌ها به مدت 22-24 ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری شدند. پایین‌ترین غلظت عصاره که هیچ باکتری نتواند در آن‌ها رشد کند، به‌عنوان مقادیر MBC گزارش شدند (Oroojalian et al., 2010).

تعیین فراکسیون ترکیبات فنولی عصاره با استفاده از LC-MS

برای شناسایی اجزای سازنده عصاره اناریچه از دستگاه کروماتوگرافی مایع (API 165 Perkin-Elmer) استفاده شد. دستگاه دارای پمپ چهار قسمتی، نمونه‌گیر و آشکارساز اتوماتیک 1100 کروماتوگراف بود. اندازه آشکارساز 500-220 نانومتر و اندازه ستون 4/6 میلی‌متر×150 میلی‌متر و حجم تزریق 100 میکرولیتر بود. تنظیمات ESI⁺ شامل درجه حرارت 35°C، یونیزاسیون الکترواسپری 4500 ولت، گاز (curtain gas) با فشار 8psi⁵، آشکارساز CEM 2300 ولت بود. محلول 1% فرمیک اسید در آب: استونیتریل با نسبت حجمی (95:5) تهیه شد و سپس محلول 0/12 میکروگرم بر میکرولیتر از عصاره در این محلول تهیه و به مدت 3 دقیقه در 13000g سانتریفوژ شد. 5 میکرولیتر از محلول تهیه شده برای آنالیز در دستگاه LC-MS مورد استفاده قرار گرفت. فاز متحرک شامل (آ) 0/1% فرمیک اسید در آب و (ب) 0/1% فرمیک اسید در 90% استونیتریل: آب با نرخ جریان 500 میکرولیتر بر دقیقه بود. ترکیبات فنولی موجود در عصاره با مقایسه زمان بازداری ترکیبات با ترکیب فنولی استاندارد شناسایی شدند و مقدار آن‌ها بر حسب درصد بیان شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری بر روی نتایج بدست آمده از تعیین MIC، MBC و میزان ترکیبات فنولی عصاره‌ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 20 صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و با استفاده از روش آنوای یک طرفه انجام شد. به‌منظور کاهش خطا کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

میزان ترکیبات فنولی عصاره

عصاره‌های گیاهی جمع‌آوری شده از منابع گیاهی دارای اثرات

از تهیه محیط کشت مادر، باکتری‌ها به مدت 24-18 ساعت در محیط MHB¹ (دمای 37°C) برده شدند (کشت شبانه).

تهیه رقت‌های مختلف عصاره و لاکتات سدیم

محلول‌های استوک هر کدام از عصاره‌ها تهیه شد. سریال رقت‌های مختلف عصاره‌ها با غلظت‌های 0/01 تا 10 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در دی متیل سولفو کسید 2/5% تهیه شد و سپس با عبور از سرنگ استریل 0/22 میکرومتر (Minisart, NML) عصاره‌ها استریل شدند. از لاکتات سدیم به‌عنوان ماده نگهدارنده استاندارد مواد غذایی استفاده شد. استاندارد میکروبی لاکتات سدیم (60 درصد وزنی / وزنی) در دی متیل سولفو کسید² (5% حجمی / حجمی) آماده شد و رقت‌های گوناگون سدیم لاکتات از 0/1 تا 20 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد (Boziarin, et al., 2011).

تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی عصاره

به‌منظور تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از روش میکرودايلوشن³ در پلیت 96 خانه‌ای استریل استفاده شد (NCCL، 2000). 70 میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث در چاهک‌ها قرار گرفت. سوسپانسیون میکروبی 0/5 مک فارلند (معادل 70 میکرولیتر که حاوی $1/5 \times 10^8$ CFU/ml کلنی باکتری در هر میلی‌لیتر است) برای هر یک از سوش‌ها، جهت تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی عصاره‌ها به میکروپلیت‌های 96 خانه‌ای اضافه شد و سپس 70 میکرولیتر از رقت‌های مختلف عصاره به هر چاهک اضافه شد (Donald et al., 2001). ستون سمت چپ که حاوی 210 میکرولیتر محیط کشت MHB، دی متیل سولفو کسید 2/5% حجمی / حجمی و ریزسازواره بود به‌عنوان کنترل مثبت و ستون سمت راست که حاوی 140 میکرولیتر محیط MHB و 70 میکرولیتر عصاره بود به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. میکروپلیت 96 خانه‌ای به مدت 24 ساعت در انکوباتور 37 درجه گرمخانه‌گذاری شد (Singh et al., 2000; Baghi, 1996).

ممانعت از رشد ریزسازواره به‌وسیله اندازه‌گیری میزان جذب و با استفاده از دستگاه قرائت‌کننده الایزا، ELISA Reader (استاتفاکس-2100 در طول موج 630 نانومتر) ارزیابی گردید و اولین خانه با کمترین جذب قرائت شده به‌عنوان MIC (میلی‌گرم / میلی‌لیتر) تعیین شد. تمام آزمایشات در سه تکرار انجام شد و میانگین داده‌های بدست آمده به‌عنوان نتایج MIC ارائه گردید (Corbo et al., 2008).

1 Mueller-Hinton broth

2 Dimethyl sulfoxide (DMSO)

3 Microdilution

4 Electrospray Ionisation

5 Channel Electron Multiplier

می‌شود ترکیبات فنولی در دو روش ماسراسیون و اولتراسوند با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند. عصاره استخراج شده به روش اولتراسوند بالاترین مقدار ترکیبات فنولی را داشت، لذا این عصاره برای شناسایی ترکیبات فنولی و فراکسیون‌ها مورد بررسی قرار گرفت. امواج اولتراسوند با ایجاد پدیده کاویتاسیون، دیواره سلولی بافت‌های گیاهی را تخریب و با افزایش نفوذ حلال به داخل سلول‌های گیاهی به خروج هرچه بیشتر ترکیبات فنولی عصاره کمک می‌کند (Hussain *et al.*, 2008). این نتایج با نتایج حسین و همکاران، (2008)، کارابگویک و همکاران (2014) و ته و بیرچ (2014) برای پوسته بادام‌زمینی، برگ گیلاس و تخم کتان مطابقت دارد که همگی آن‌ها اعلام نمودند اولتراسوند ترکیبات فنولی را به میزان بیشتری استخراج می‌نماید.

ضدمیکروبی علیه باکتری‌ها، قارچ‌های رشته‌ای، مخمرها و ویروس‌ها هستند که به دلیل حضور ترکیبات طبیعی پیچیده‌ای مانند هیدروکربن‌ها (ترپنوئیدها)، ترکیبات اکسیژن‌دار، الکل‌ها، اترها، استرها، کتون‌ها، آلدئیدها، لاکتون‌ها، فنول‌ها و فنول‌ استرها می‌باشد (Stefanakis *et al.*, 2014). ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی با اثر بر لایه فسفولیپیدی دیواره سلولی ریزسازواره‌ها باعث افزایش نفوذپذیری غشا و خروج محتوی سلول‌های ریزسازواره‌ها می‌شوند. همچنین ممکن است اثرات ضدمیکروبی خود را با اثر بر آنزیم آمینواسید دکربوکسیلاز ریزسازواره‌های هدف اعمال کنند (Ojagh *et al.*, 2010). بر اساس نتایج به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل کمی ترکیبات فنولی عصاره توسط روش اسپکتروفتومتری، میزان ترکیبات فنولی استخراج شده با روش‌های گوناگون 1502/25 تا 1836/69 (mg GA/100g) بود. همانطور که در جدول 1 مشاهده

جدول 1- مقدار فنول کل اندازه‌گیری شده عصاره اناریچه به روش اسپکتروفتومتری

نوع روش عصاره‌گیری	فنول کل (mg GA/100g E)
ماسراسیون	1790/63±26/1 ^a
سیال فوق بحرانی	1502/52±19/4 ^b
اولتراسوند	1836/69±31/2 ^a

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح 5% است.

(*al.*, 2015). تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل در ترکیبات فنولی موجود در عصاره فاکتور اصلی و موثر بر فعالیت ضداکسایشی این ترکیبات است (Ulte *et al.*, 2002) و با افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل فعالیت ضدمیکروبی عصاره افزایش می‌یابد (Cowan, 1999).

مقایسه حداقل غلظت‌کشندگی¹ و حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی² عصاره‌های مختلف

حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظتی از عصاره است که می‌تواند به میزان 90 درصد از رشد باکتری‌ها جلوگیری کند و حداقل غلظت کشندگی باکتریایی، حداقل غلظتی از عصاره است که باعث جلوگیری از رشد 99/9 درصد از باکتری‌ها می‌شود. نتایج نشان داد که ریزسازواره‌های اشیریشیاکلی و سودوموناس آیروزنز نسبت به لیستریامونوسیتوزنز و استافیلوکوکوس اورئوس دارای حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی و حداقل غلظت کشندگی بیشتری می‌باشند. عصاره اناریچه در غلظت‌های بالای 10 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و بالاتر با هر کدام از روش‌های ماسراسیون، فوق بحرانی و با کمک اولتراسوند که استخراج شود بر روی باکتری‌ها دارای اثرات کشندگی است. حداقل

ترکیبات شناسایی شده در عصاره اناریچه

مهمترین ترکیبات شناسایی شده توسط دستگاه LC-MS در جدول 2 نشان داده شده است. عصاره اناریچه حاوی ترکیبات فنولی مانند گالیک اسید و آپیجینین است. مارستیک و همکاران (2013) ضمن بررسی اثرات ضداکسایشی و ضدمیکروبی عصاره زولنگ (از خانواده چتریان) وجود اسید گالیک و آپیجینین در عصاره را تایید نمودند.

در مطالعه آن‌ها هر دو عصاره متانولی و کلروفرمی زولنگ بر روی هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آیروزنز و اشیریشیاکلی دارای اثرات مهار کننده بودند. مقدار MIC برای هر سه عصاره 15/6 میکروگرم بر میلی لیتر بود. حلقه B فلاونوئید آپیجینین سنتز DNA و RNA را محدود می‌نماید (Cushnie & Lamb, 2005). ترکیب دیگر شناسایی شده در عصاره اناریچه کامپفرول بود که اثرات ضدباکتریایی آن ثابت شده است (Akroum *et al.*, 2009). این ترکیب احتمالاً بر روی دیواره‌های سلولی باکتری‌ها اثر می‌گذارد و همچنین با غیرفعال نمودن آنزیم‌ها و از بین بردن همبستگی پوشش‌های پروتئینی باکتری اثرات ضدمیکروبی خود را اعمال می‌کند (Cowan, 1999). ترکیبات فنولی پی-کوماریک و کافئیک اسید (شناسایی شده در عصاره اناریچه) دارای خاصیت ضدمیکروبی هستند (Mianabadi *et*

1 Minimom inhibitory concentration

2 Minimom bacteriocidal concentration

غلظت ممانعت‌کنندگی و حداقل غلظت‌کشندگی ریزسازواره‌ها در روش اولتراسوند کمتر بود و بعد از آن به ترتیب عصاره استخراج شده به روش ماسراسیون و عصاره حاصل از روش فوق بحرانی قرار داشت

جدول 2- ترکیب شیمیایی عصاره اناریچه

مقدار (بر حسب درصد)	شاخص بازداری	
5/09	4/1	Gallic acid
0/04	5/03	3-O-Caffeoylquinic acid
1/59	6/1	4-O-Caffeoylquinic acid
1/33	7/39	3-caffeoylquinic acid (neochlorogenic acid)
4/13	8/2	5-O-Caffeoylquinic acid
0/07	8/22	5-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid)
31/54	11/32	chlorogenic Acid
0/24	11/73	3-feruloylquinic acid
0/1	12	4-caffeoylquinic acid (cryptochlorogenic acid)
0/84	13/4	Quercetin-3-O-glucuronide
0/03	13/9	1,5-O-Dicaffeoylquinic acid
0/11	15/10	5-feruloylquinic acid
0/02	15,12	3,5-O-Dicaffeoylquinic acid
1/34	15/22	Quercetin-O-dihexoside
0/14	15/54	1-feruloylquinic acid
12/73	16/04	Cafeic acid
3/26	16/1	Apigenin-7-O-glucoside
1/05	16/8	Quercetin-3-O-rutinoside (rutin)
1	18/3	Quercetin-3-O-galactoside (hyperoside)
8/14	18/42	Apigenin-acetyl-apiosylglucoside (acetyl-apiin)
0/06	18/54	Kaempferol 3-O-rutinoside
0/54	18/6	Quercetin-3-O-glucoside (isoquercitrin)
6/68	18/63	Apigenin-malonyl-apiosylglucoside (malonyl-apiin)
0/01	18/7	4,5-O-Dicaffeoylquinic acid
0/12	19/81	Kaempferol 3-O-glucoside
0/06	20/28	Quercetin-3-O-glucuronide (miquelianin)
1/86	20/4	Luteolin-7-O-glucoside
11/19	21/5	Apigenin-6-C-glucoside
0/07	21/69	1,5-dicaffeoylquinic acid
5/62	22/45	Rosmarinic acid
0/83	34/11	p-Coumaric acid derivative

استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آبیروژنز را که با عصاره آویشن تیمار شده بود، به ترتیب 10 و 20 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اعلام نمودند که در پژوهش حاضر برای عصاره ماسراسیونی به ترتیب 5 و 7/25 به دست آمد و دلیل اختلاف نوع عصاره مورد بررسی بوده است. ایزدی و همکاران (2014) اعلام نمودند حداقل غلظت‌کشندگی با استفاده از روش میکرودایلوشن در مورد عصاره گیاه سرخاگل برای باکتری‌های لیستریامونوسیتوژنز، اشیریشیاکلی و سودوموناس آبیروژنز افزایش یافت.

بر اساس نتایج آن‌ها مقادیر MIC برای استافیلوکوکوس اورئوس کمتر از اشیریشیاکلی بود. در مطالعه تارون و پیندی (2013) بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه *Pimpinella tirupatiensis* با روش انتشار در دیسک نشان‌دهنده حساسیت بالاتر اشیریشیاکلی نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس بود و مساحت ناحیه بازدارندگی برای اشیریشیاکلی کمتر بود. جوادیان و همکاران (1393) حداکثر غلظت ممانعت‌کنندگی و حداقل غلظت‌کشندگی برای باکتری‌های

این نتایج در مورد لیستریا با نتایج ما مطابقت داشت.

جدول 3- حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی و حداقل غلظت‌کشندگی عصاره‌های مختلف

حداقل غلظت‌کشندگی (میلی گرم بر میلی لیتر)				حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (میلی گرم بر میلی لیتر)				گرم	ریزسازواره
لاکتات سدیم	اولتراسوند	فوق بحرانی	ماسراسیون	لاکتات سدیم	اولتراسوند	فوق بحرانی	ماسراسیون		
16±1/2 ^{Ab}	10±1/08 ^{Cb}	12±1/3 ^{Bc}	10±0/6 ^{Cc}	13/5±1/3 ^{Ab}	4±0/25 ^{Cb}	5/5±0/5 ^{Bc}	5±0/5 ^{Bc}	+	استافیلوکوکوس اورئوس
16±1/2 ^{Ab}	10±0/9 ^{Cb}	14±1/1 ^{Bb}	13 ^{Bb}	13/5±1/3 ^{Ab}	4±0/25 ^{Cb}	6/5±0/52 ^{Bb}	6/25±0/43 ^{Bb}	+	لیستریا منوسیتوژنز
18±1/2 ^{Aa}	14±1/1 ^{Ba}	18±1/3 ^{Aa}	15±0/75 ^{Ba}	16/5±1/14 ^{Aa}	8±0/5 ^{Ba}	9±0/5 ^{Ba}	7/25±0/25 ^{Ca}	-	سودوموناس آبروژنز
18±1/3 ^{Aa}	14±1/1 ^{Ba}	18±1/3 ^{Aa}	15±0/75 ^{Ba}	16/5±1/14 ^{Aa}	8±0/5 ^{Ba}	9±0/5 ^{Ba}	7/25±0/25 ^{Ca}	-	اشریشیاکلی

حروف کوچک غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح 5% است.

حروف بزرگ غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح 5% است.

پروتئازها از گروه آنزیم‌های تجزیه‌ای و بتالاکتامازها (پنی‌سیلیناز) و آنزیم‌های فسفوریله‌کننده آمینوگلیکوزید از گروه آنزیم‌های سم‌زدا قادرند ملکول‌های وارد شده را تجزیه کنند. در مورد باکتری‌های گرم مثبت مواد ضد میکروبی به‌راحتی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب کرده که منجر به نشت سیتوپلاسم و انعقاد آن می‌شود (Duffy & Power, 2001; Negi et al., 2003). مکانیسم دیگر ضد میکروبی ترکیبات فنولی توانایی آن‌ها در شکل‌دهی ترکیبات محلول سنگین با پروتئین‌ها است. این ترکیبات با تخریب گیرنده‌های سطحی دیواره باکتری‌ها، در سنتز پروتئین‌ها اختلال ایجاد می‌کند (Singh et al., 2000; Almajano et al., 2008). لذا با توجه به توضیحات گفته شده دلیل بالاتر بودن حداقل غلظت‌کشندگی ریزسازواره‌های گرم منفی به خوبی توجیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه به بررسی اثر روش‌های مختلف استخراج بر خاصیت ضد میکروبی عصاره برگ گیاه اناریجه پرداخته شد. نتایج نشان داد بین میزان ترکیبات فنولی عصاره و فعالیت ضد میکروبی عصاره رابطه مستقیم وجود دارد. عصاره حاصل از روش اولتراسوند به دلیل دارا بودن مقادیر بالای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی فعالیت ضد میکروبی بالاتری نشان داد و مقادیر MIC و MBC کمتری نسبت به عصاره‌های حاصل از روش‌های ماسراسیون و فوق بحرانی داشتند. نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌کند که با توجه به اینکه عصاره اناریجه مضرات ضد میکروبی‌های سنتزی را ندارد می‌توان آن را به‌عنوان یک ضد میکروب طبیعی در صنعت غذا استفاده نمود.

جامه‌دار و همکاران (2014) حداقل غلظت‌کشندگی برگ سنجد را 12/5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر علیه باکتری سودوموناس آبروژنز تعیین نمودند. عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های مختلف دارای اثرات ضدباکتریایی بر رشد سودوموناس آبروژنز هستند (Jemadar et al., 2014). نصیرپور و همکاران (1394) حساسیت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت لیستریا و استافیلوکوکوس به عصاره‌های گیاهی نسبت به باکتری‌های گرم منفی مانند اش‌ریشیاکلی را به علت تفاوت‌های ساختمانی ریزسازواره‌ها دانستند. در باکتری‌های گرم مثبت تماس مستقیم ترکیبات هیدروفوب عصاره با ساختمان دیواره سلولی صورت می‌گیرد. این محل جایی است که این ترکیبات اثر خود را بر جای می‌گذارند. این اثر یا به‌صورت افزایش نفوذپذیری یون‌ها و یا نشت ترکیبات حیاتی سلولی رخ می‌دهد و یا اینکه به‌صورت ناتوانی سیستم آنزیمی باکتریایی بروز می‌کند. برخی از محققین ارتباط بین ساختارهای شیمیایی برخی از اجزا غالب موجود در عصاره‌ها را با فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها گزارش نموده‌اند (Corbo et al., 2008). مکانیسم دقیق اثرات ضدباکتریایی عصاره‌ها هنوز به‌طور کامل درک نشده است. به نظر می‌رسد ترکیبات فنولی موجود در عصاره از طریق تغییر ساختار و عمل غشا سلولی اثرات ضد میکروبی خود را اعمال می‌کنند. این ترکیبات با افزایش نفوذپذیری غشا منجر به افزایش حجم و متورم شدن سلول می‌شوند (Ziech et al., 2012; Kalemba & Kunicka, 2003). باکتری‌های گرم منفی علاوه بر پپتید و گلیکان، یک مایکولیک اسید هم دارند که سطح هیدروفیلی آن غنی از مولکول‌های لیپولی ساکاریدی می‌باشد و به‌عنوان مانع در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کند (Kalemba & Kunicka, 2003). همچنین آنزیم‌های موجود در فضای پری‌پلاسمی (فسسفاتازها و

منابع

جوادیان، ف.، نصیری، ع.ا.، باقری، غ.، سپهری، ز.، کیانی، ز.، کشاورز، ک.، عنبری، م. 1393، بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی علیه باکتری‌های پسودوموناس آبروژینوزا و استافیلوکوکوس آرنوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف. فصلنامه علمی پژوهشی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی زابل، 6(4)، 9-15.

- نصیریپور، م.، باورمنش، م.، محمدی ثانی، ع.، محمدزاده مقدم، م. 1394. بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره درمنه کوهی، (*Artemisia aucheri*) درمنه دشتی (*Artemisia sieberi*) وزوفا (*Hyssopus officinalis* L.) بر برخی از باکتریهای بیماریزا با منشا غذایی، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، 46(12)، 73-84.
- Akroum, S., Bendjeddou, D., Satta, D., & Lalaoui, K., 2009, Antibacterial activity and acute toxicity effect offlavonoids extracted from *Mentha longifolia*. *American Eurasian Journal of Scientific Research*, 4, 93-96.
- Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, P. & Mason, J., 2004, Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(3), 261-265.
- Almajano, M. P., Carbo, R., Jimenez, J. A., & Gorden, M. H., 2008, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tea Infusions. *Food Chemistry*, 108(1), 55-63.
- Baghi, N., 1996, Study of antimicrobial effect of *salvia leriifolia*. *Phdthesis*. Pharmacology faculty. Mashhad medical science university.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., & Anackov, G., 2006, Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1822-1828.
- Bozari, I.S., Kordila, A. & Neofitou, C., 2011, Microbial spoilage analysis and its effect on chemical changes and shelf-life of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in air at various temperatures. *International journal of food science and technology*, 46(4), 887-895.
- Celiktas, O. Y., Kocabas, E. E. H., Bedir, E., Sukan, F. V., Ozek, T., & Baser, K. H. C., 2007, Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100(2), 553-559.
- Corbo, M. R., Speranza, B., Filippone, A., Granatiero, S., Conte, A., Sinigaglia, M., & DelNobile, M. A., 2008, Study on the synergic effect of natural compounds on the microbial quality decay of packed fish hamburger. *International Journal of Food Microbiology*, 127(3), 261-267.
- Cowan, M. M., 1999, Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
- Cushnie, T. P., & Lamb, A. J., 2005, Antimicrobial activity offlavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343-356.
- Donald, S., Prenzler, P. D., Autolovich, M., & Robards, K., 2001, Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73(1), 73-84.
- Duffy, C. F., & Power, R. F., 2001, Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17(6), 527-529.
- Goli, A.H., Barzegar M., & Sahari M. A., 2005, Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92(3), 521-525.
- Gulcin, I., Oktay, M., Kirecci, M., & Ku'freviog'lu, O. I., 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83(3), 371-382.
- Gyawali, R., & Ibrahim, S. A., 2012, Impact of plant derivatives on the growth of foodborne pathogens and the functionality of probiotics. *Applied Microbiology Biotechnology*, 95(1), 29-45.
- Hayek, S. A., Gyawali, R., & Ibrahim, S. A., 2013, Antimicrobial natural products. In A. M.endez-Vilas (Ed.), *Microbial pathogens and strategies for combating them. Science, Technology and Education*, 2, 910-921.
- Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., & Przybylski, R., 2008, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3), 986-995.
- Izadi, Z., Sorooshzadeh, A., Modarres Sanavi, S.A.M., Esna-Ashari, M., & Davoodi, P., 2014, Investigation on antimicrobial effects of essential oil of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) and identification of its chemical compounds. *Iranian South Medical Journal*, 17(1), 58-69.
- Jemadar, S., Zarabi, M., Mehrnezhad, F., & Yavarpour -Kordestani, V., 2014, The study of antimicrobial effect of Iranian plant extract on standard *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Medical Microbiology*, 8(2), 51-54.
- Kalemba, D., & Kunicka, A., 2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medical Chemistry*, 10(10), 813-829.
- Karabegovic, I.T., Stojicevic, S.S., Velickovic, D.T., Todorovic, Z. B., Nikolic, N. C., & Lasic, M. L., 2014, The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Industrial Crops and Products*, 54, 142-148.
- Marčetić, M., Petrović, S., Milenković, M., & Niketić, M., 2013, Composition, antimicrobial and antioxidant activity of the extracts of *Eryngium palmatum* Pančić and Vis. (Apiaceae). *Open Life Science*, 9(2), 149-155.
- Mianabadi, M., Hoshani, M., & Salmanian, S., 2015, Antimicrobial and Anti-oxidative Effects of Methanolic Extract of

- Dorema aucheri Boiss. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17, 623-634.
- Mozaffarian, V. A., 1996, Dictionary of Iranian Plant Names. *Farhang Moaser*, 473-478.
- Negi, P. S., Jayaprakasha, G. K., & Jena, B.S., 2003, Antioxidant and Antimutagenic Activities of Pomegranate Peel Extracts. *Food Chemistry*, 80(3), 393-397.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H., 2010, Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1), 193-198.
- Oroojalian, F., Kasra-kermanshahi, R., Azizi, M., & Bassami, M. R., 2010, Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens, *Food Chemistry*, 120(3), 765-770.
- Razavi, R., & Esmaeilzadeh kenari, R., 2016, Antioxidant activity of red onion (*Allium cepa* L.) peel extract produced by maceration, ultrasonic assisted and supercritical extraction techniques. *First International Food Science and Technology Congress*, Iran, Tehran.
- Singh, P. K., Tack, B. F., McCray, P. B., & Welsh, M. J., 2000, Synergistic and additive killing by antimicrobial factors found in human airway surface liquid. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279(5), 799-805.
- Stefanakis, M. K., Anastopoulos, E., Katerinopoulos, H. E., & Makridis, P., 2014, Use of essential oils extracted from three Origanum species for disinfection of cultured rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture Research*, 45(11), 1861-1866.
- Tabanca, N., M. G., Pasco, D. S., Bedir, E., Kirimer, N., Husnu, K., Baser, C., Khan, I. A., & Khan, S. I., 2007, Effect of Essential Oils and Isolated Compounds from Pimpinella Species on NF-B: A Target for Anti-inflammatory Therapy. *Phytotherapy Research*, 21(8), 741-745.
- Tachakittirungrod, S., Okonogi, & Chowwanapoonpohn, S., 2007, Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry*, 103(2), 381-388.
- Tajkarimi, M., Ibrahim, S., & Cliver, D., 2010, Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21(9), 1199-1218.
- Tharun G., & Kumar Pindi, P., 2013, Evaluation of antioxidant potential and antimicrobial activity of successive extracts of Pimpinella tirupatiensis. *Journal of Pharmacy Research*, 7, 817-822.
- The, S., & Brich, J. B., 2014, Effect of ultrasonic treatment on the polyphenol content and antioxidant capacity of extract from defatted hemp, flax and canola seed cakes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 346-353.
- Ulte, A., Bennik, M.H.J., & Moezelaar, R., 2002, The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food pathogen *Bacillus cereus*. *Applied Environmental Microbiology*, 68, 1561-1568.
- Ziech, D., Anastopoulos, I., Hanafi, R., Voulgaridou, G. P., Franco, R., & Georgakilas, A. G., 2012, Pleiotrophic effects of natural products in ROS induced carcinogenesis: the role of plant-derived natural products in oral cancer chemoprevention. *Cancer Letters*, 327(1), 16-25.

Effect of extraction methods on phenolic content and antimicrobial properties of *pimpinella affinis* leaf

E. Shekouh Saremi¹, M. B. Habibi Najafi^{2*}, M. H. Hadad Khodaparast², M. Baheini³

Received: 2016.10.14

Accepted: 2017.02.28

Introduction: It has been well demonstrated that vegetables provide, in addition to other basic nutrients, bioactive substances with beneficial effects on human health. In fact, the consumption of vegetables has been associated with lower incidence and lower mortality rates of cancer and cardiovascular diseases in humans. Increasing demand for natural additives has shifted the attention from synthetic to natural antimicrobial agents. Leafy vegetables are found to be good source of antimicrobial agents. This study was aimed to examine the antimicrobial activity of leaf extracts of *pimpinella affinis*. *Pimpinella affinis* is a member of the family Apiaceae. This biennial herb grows up to 110 cm tall and is native in central and northern parts of Iran. In traditional medicine this herb is being used as carminative agent, appetizer, diuretic, antispasmodic drug, antimicrobial, sedative and lactation medication. It has also been distinguished as an antioxidant and antibacterial agent. There are several methods of obtaining extract from plants including maceration, supercritical fluid extraction, subcritical water extraction, microwave and ultrasonic assisted method.

Materials and Methods: After collection from natural habitats of *Pimpinella affinis* in Mazandaran Province, it was then approved by the Department of Botany of Faculty of Agriculture of University of Sari. The plant was dried in a dry and dark place away from the sun and then was pulverized in the mill and sieved by a mesh of 80 (800 microns). *Pimpinella affinis* extract obtained by using maceration extraction (ME), ultrasonic assisted method (UAE) and supercritical fluid extraction (SFE). Ethanol: water in 50:50 ratio used as solvent for extraction. Total phenolic content of different extracts was measured by Folin-ciocalteu method. The phenolic compounds fractions were determined using Liquid chromatography–mass spectrometry system. After preparing the mother culture medium, the bacteria were cultured in MHB medium (37 ° C) for 24-18 hours. Stock solutions were prepared from each of the extracts. Serial dilutions of the extracts at concentrations of 0.01 to 10 mg / ml in 2.5% dimethyl sulfoxide were prepared and then sterilized with 0.22 μm pore size syringe filter. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration assay (MBC) were determined by micro dilution method for *listeria monocytogenes* (ATCC19112), *staphylococcus aureus* (ATCC25923), *pseudomonas aeruginosa* (ATCC9027) and *Escherichia coli* (ATCC25922). Antimicrobial growth was inhibited by measuring the absorbance and ELISA Reader was used to determine the growth rate of microorganisms, and the first house with the lowest absorption read as MIC (mg /ml) was determined. Statistical analysis of MIC, MBC and phenolic compounds of extracts results was done in a completely randomized design and using SPSS software version 20. The comparison of the means was done using Duncan's test and one-way ANOVA method. In order to reduce the error, all experiments were performed in triplicate.

Results and Discussion: Total phenolic content of extracts ranged between 1502.25 to 1836.69 mg GA/100g E. The results showed that the ultrasonic assisted method have highest total phenolic content and the least phenolic content was observed in extract which obtained by supercritical fluid extraction. Chlorogenic Acid, Caffeic acid and Apigenin-6-C-glucoside were the predominant fractions in *Pimpinella affinis* which detected by Liquid chromatography–mass spectrometry system. The least and highest amount of MIC and MBC were belonged to ultrasonic assisted and supercritical fluid extracts, respectively. *Staphylococcus aureus* was most sensitive and *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were most resistance bacteria. *Pimpinella* extract due to having phenolic compounds such as Gallic acid, Caffeic acid, Chlorogenic Acid, Kaempferol and Apigenin showed antimicrobial activity and can be used as natural antimicrobial agent.

Keywords: *Pimpinella affinis*, Ultrasonic assisted, Maceration, Supercritical Extraction, Antimicrobial

1 and 2. Ph.D Student and Professor, Department of Food and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.

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

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

Activity

مقایسه روش‌های آنزیمی، اهمی و متداول بر بازده و ویژگی‌های کیفی پکتین استخراجی از ضایعات پرتقال

حامد صابریان¹ - زهره حمیدی اصفهانی^{2*} - حسن احمدی گاولیقی³ - محسن برزگر²

تاریخ دریافت: 1395/09/28

تاریخ پذیرش: 1395/12/25

چکیده

ابتدا تاثیر غلظت آنزیم، نسبت ماده جامد به حلال و زمان بر بازده پکتین استخراجی از ضایعات پرتقال با استفاده از دو نوع آنزیم سلولولاز Celluclast و Rohament مورد بررسی قرار گرفت. سپس بازده، درجه استری، میزان گالاکتورونیک اسید، ویژگی‌های امولسیفایری و رفتار گرانشی پکتین‌های استخراجی در بهترین شرایط استخراج توسط آنزیم‌ها با بهترین شرایط استخراج توسط روش نوین اهمی (مقاومتی) و روش متداول اسیدی مقایسه شد. نتایج حاکی از آن بود که بیشترین بازده پکتین با استفاده از آنزیم Celluclast و Rohament به ترتیب در غلظت‌های آنزیم 15 و 17/5 درصد، نسبت ماده جامد به حلال 1:20 و 1:40 و زمان 3 ساعت حاصل شد که برابر با 5/92 و 10/7 درصد بود. بیشترین بازده پکتین در روش نوین گرمایش اهمی در شیب ولتاژ 15 ولت بر سانتی‌متر، دمای 90 درجه و زمان 30 دقیقه بدست آمد (14/33%) که بیشتر از روش متداول (13/53%) نیز بود. فعالیت امولسیفایری پکتین‌های استخراجی با دو روش گرمایش اهمی و متداول به ترتیب 65/47 و 67/18% بود اما پکتین استخراجی به روش آنزیمی فاقد فعالیت امولسیفایری بود. گرانشی پکتین‌های استخراجی با روش‌های اهمی و متداول در غلظت 2% نیز نسبت به نوع آنزیمی بسیار بالاتر بود. بنابراین پکتین استخراجی با روش اهمی و همچنین متداول بیشترین بازده، ویژگی امولسیفایری و گرانشی را داشت.

واژه‌های کلیدی: استخراج پکتین، ضایعات پرتقال، روش آنزیمی، گرمایش اهمی، ویژگی‌های کیفی

مقدمه

پکتین دارای خواص عملکردی زیادی بوده و می‌تواند به‌عنوان غلیظ‌کننده، عامل تشکیل ژل، پایدارکننده، امولسیفایر و عامل باندکننده کاتیون عمل کند. همچنین دارای فواید درمانی مثل کاهش میزان کلسترول خون، حذف یون‌های فلزی سنگین از بدن، تثبیت‌کننده فشار خون و تسهیل فعالیت روده‌ای می‌باشد (فتحی و همکاران، 1391؛ Sato *et al.*, 2011). پکتین می‌تواند به‌عنوان یک محصول جانبی از منابع مختلفی مانند تفاله سیب درختی، تفاله و پوست (لایه داخلی سفید رنگ) مرکبات، تفاله چغندر قند و طبق گل آفتابگردان استخراج شود (کرامت و همکاران، 1381؛ مصباحی، 1388). بیشترین بازده تولید پکتین از پوست مرکبات می‌باشد (آزادبخت و همکاران، 1382؛ مصباحی و جمالیان، 1381؛ Xie *et al.*, 2008; Mohnen, 2008). رایج‌ترین شیوه برای استخراج صنعتی پکتین، استخراج اسیدی می‌باشد (Koubala *et al.*, 2008) گرچه آب‌کافت اسیدی در دمای بالا معایبی نیز دارد که عیب اصلی آن نگرانی‌های زیست محیطی به

پکتین، پلی‌ساکارید پیچیده‌ای است که در حد فاصل بین دیواره‌های سلولی گیاهان مختلف وجود دارد و حدود 35% از دیواره سلولی گیاهان را تشکیل می‌دهد. (Mohnen, 2008). این پلی‌ساکارید از نظر شیمیایی پلی‌مری طولی از 1 و 4 آلفادی گالاکتورونیک اسید می‌باشد که در زنجیره جانبی آن قندهایی از جمله رامنوز، آرابینوز، گالاکتوز و زایلوز وجود دارند (Yapo, 2011) در برخی نقاط از زنجیره پلیمر، عامل کربوکسیل آن با متانول به‌صورت استر در آمده است (مصباحی و جمالیان، 1381). پکتین بر اساس درجه استریفیکاسیون به دو گروه با درجه متوکسی بالا (درجه استری بالا، بیش از 50%) و درجه متوکسی پایین (کمتر از 50%) تقسیم‌بندی می‌شوند. درجه استریفیکاسیون عامل کلیدی در خواص رئولوژی و فیزیکی شیمیایی پکتین می‌باشد به‌طوری که توانایی پکتین در تشکیل ژل به آن بستگی دارد. از طرفی مقدار بالاتر اسید گالاکتورونیک از مشخصات خلوص بالاست (وئوقی، 1375).

(* - نویسنده مسئول: (Email: h_zohreh@yahoo.com

DOI: 10.22067/ifstrj.v1396i0.61093

1، 2 و 3- به ترتیب دانش‌آموخته دکتری، استاد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

در نهایت، انتخاب بهترین روش استخراج می باشد.

مواد و روش‌ها

ضایعات پرتقال از فروشگاه آمیوه‌ای در تهران تهیه شد. ضایعات به قطعات کوچکتر تقسیم شد و دانه‌های پرتقال جدا شده و در آن هوای خشک با دمای 60°C تا رسیدن به وزن ثابت (حدود 36 ساعت) خشک شد. ضایعات خشک شده با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی آسیاب شد و از الک با مش 60 عبور داده شد تا پودر مناسب و یکنواختی تهیه شود. پودر آسیاب شده در دمای محیط نگهداری شد.

استخراج پکتین

بهینه سازی استخراج آنزیمی پکتین

دو آنزیم مختلف سلولولازی (Celluclast و Rohament) جهت استخراج پکتین از ضایعات آب پرتقال مورد استفاده قرار گرفتند و شرایط بهینه استخراج مورد بررسی قرار گرفت. پارامترهای استخراج آنزیمی در چند مرحله بهینه‌سازی شدند. ابتدا غلظت آنزیم‌ها ($2/5$ تا 20% نسبت به وزن خشک نمونه) در شرایط ثابت دما، pH، نسبت S/L و زمان به ترتیب 60 ، $4/5$ ، $1:20$ و 3 ساعت بهینه‌سازی شد. دور همزن انکوباتور، 300 rpm بود. یک گرم از نمونه پودر ضایعات آب پرتقال آسیاب شده با 19 میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر بافر استات سدیم با $4/5$ pH (جهت جلوگیری از تغییرات pH طی فرآیند استخراج) مخلوط شد و مقادیر 25 تا 200 میکرولیتر از هر کدام از آنزیم‌ها به صورت جداگانه به محلول حاوی پودر ضایعات آب پرتقال اضافه شد. این آزمون غلظت بهینه هر آنزیم را مشخص می‌نماید. سپس نسبت S/L (از $1:10$ تا $1:50$ گرم بر میلی‌لیتر) در شرایط ثابت دمایی، pH و زمانی به ترتیب 60 ، $4/5$ و 3 ساعت بهینه‌سازی شد. غلظت آنزیم مورد استفاده در این آزمون، همان غلظت بهینه شده در آزمون قبل می باشد. در نهایت، زمان بهینه (1 تا 18 ساعت) جهت استخراج پکتین در شرایط غلظت و نسبت S/L از پیش بهینه شده، مورد بررسی قرار گرفت تا زمانی که بیشترین بازده پکتین استخراج می‌شود، انتخاب گردد.

استخراج پکتین با استفاده از روش اهمی

اثر عوامل مختلف شیب ولتاژ ($7-15$ ولت بر سانتی‌متر)، دما ($50-70$ درجه) و زمان ($5-30$ دقیقه) بر بازده پکتین، درجه استریفیکاسیون و میزان گالاکتورونیک اسید مورد بررسی قرار گرفت. pH محلول و نسبت S/L به ترتیب 2 و $1:20$ در نظر گرفته شد.

خاطر تولید حجم بالایی از فاضلاب اسیدی می‌باشد. علاوه بر آن، فرآیند اسیدی شدید ممکن است موجب تجزیه نامطلوب زنجیره پکتین گردد (Dominiak et al., 2014). اخیراً بکارگیری روش‌های استخراج جدیدی که پکتین با راندمان و کیفیت بالا را نتیجه دهد و از تجزیه پکتین جلوگیری کند، مورد استقبال قرار گرفته اند. برخی از فناوری‌های نوآورانه و کاربردی از قبیل فراصوت (Maran & Maran et al., 2015; Wang et al., 2015; Priya, 2015)، مایکروویو (Maran et al., 2015)، فشار بالا (Guo et al., 2012)، میدان الکتریکی پالسی (Yin et al., 2009) و میدان الکتریکی ملایم (de Oliveira et al., 2015) به علت افزایش نفوذپذیری بافت‌های گیاهی و در نتیجه افزایش بازده استخراج پکتین مورد استفاده قرار گرفته است.

گرمایش اهمی (گرمایش مقاومتی) یک فن آوری حرارت‌دهی مبتکرانه است که برای فرایند حرارتی مواد غذایی به کار گرفته می‌شود. در این روش، غذا به عنوان مقاومت الکتریکی بین دو الکترود قرار می‌گیرد و یک جریان الکتریکی متناوب از این مدار عبور می‌کند. به علت تاثیر و اهمیت مقاومت الکتریکی در این روش، حرارت به طور یکنواخت‌تری نسبت به روش متداول در سراسر غذا حتی در مدت چند ثانیه تولید می‌شود (Ahmed et al., 2010). مزیت‌های عمده این روش، حرارت‌دهی سریع، یکنواخت، ضریب تبدیل انرژی بالا، دوستاند محیط زیست (به علت کارایی روش از نظر انرژی و همچنین امکان کاهش حلال و مواد شیمیایی) و مناسب بودن برای مایعات گرانبه می‌باشد (Assiry et al., 2010; de Oliveira et al., 2015).

روش استخراج آنزیمی به علت عدم استفاده از اسید، روشی دوستاند محیط زیست است ضمن اینکه پتانسیل مناسبی نیز برای استخراج پکتین با بازده بالا دارد (Wikiera et al., 2015) با توجه به اینکه ساختار و ترکیب دیواره سلولی پیچیده است و معمولاً از $15-45\%$ پکتین، $30-60\%$ سلولز، $15-25\%$ همی سلولز و $10-15\%$ گلیکوپروتئین (بر اساس وزن خشک) تشکیل شده است بسیاری از آنزیم‌ها از قبیل سلولولاز و همی سلولولاز برای آزادسازی پکتین از دیواره سلولی مورد استفاده قرار گرفته اند (Dominiak et al., 2014).

باتوجه به اینکه در ایران سالیانه بیش از یک صد تن پکتین در صنایع غذایی و دارویی به مصرف می‌رسد، که تماماً از خارج از کشور تامین می‌گردد و ارزشی نسبتاً چشمگیری دارد، بررسی تولید آن در داخل کشور اهمیت و ارزش بالایی خواهد داشت. لذا، هدف از این تحقیق، بررسی تاثیر روش استخراج آنزیمی بر بازده و کیفیت (درجه استری، گالاکتورونیک اسید، ویژگی‌های امولسیفایری و گرانبه‌ی) پکتین و مقایسه آن با پکتین استخراجی با روش اهمی و متداول و

دور 150 rpm همزده شد تا عمل صابونی کردن استرهای پکتین انجام پذیرد. سپس 10 میلی‌لیتر از اسید کلریدریک 0/5 نرمال به نمونه‌ها اضافه شد و عمل همزدن انجام گرفت تا سود مصرفی را خنثی سازد. در نهایت محلول نهایی با سود 0/1 نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم رنگ تیترا شد و به‌عنوان حجم ثانویه (V_2) ثبت گردید. با استفاده از رابطه (3) درجه استریفیکاسیون نمونه‌ها محاسبه گردید:

$$DE(\%) = (V_2 / (V_2 + V_1)) \times 100 \quad (2)$$

تعیین میزان گالاکتورونیک اسید

میزان گالاکتورونیک اسید نمونه‌ها مطابق روش اسکات (1979) با اندکی اصلاحات اندازه‌گیری شد (Scott, 1979). ابتدا پکتین خشک شده پودر گردید و از الک با مش 60 عبور داده شد. از آنجایی که پکتین پودر شده تمایل به کلوخه‌ای شدن دارد، با استفاده از اتانول مرطوب گردید. بعد از آن، 2 میلی‌لیتر اسیدسولفوریک 72% به نمونه‌ها اضافه شد و در حمام آب گرم با دمای 50°C درجه برای مدت 10 دقیقه جهت هضم پکتین حرارت داده شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از آب مقطر تا حجم 100 میلی‌لیتر رقیق شدند و بعد از آن به نسبت 1:1 با سود 0/5 نرمال رقیق شدند تا متانول موجود در پکتین استرزدایی شود. 0/125 میلی‌لیتر از محلول تهیه شده با 0/125 میلی‌لیتر از 2% NaCl در لوله شیشه‌ای مخلوط شد تا ایجاد رنگ توسط قندهای خنثی به حداقل برسد. 2 میلی‌لیتر از اسید سولفوریک غلیظ (96%) به محلول قبلی افزوده شد و همزدن صورت پذیرفت. نمونه‌ها به مدت 10 دقیقه در حمام آب گرم با دمای 70°C درجه قرار گرفتند و سپس سریعاً تا دمای محیط سرد شدند. 0/1 میلی‌لیتر از معرف رنگی 3 و 5 دی‌متیل فنل (0/1 گرم از 3 و 5 دی‌متیل فنل در 100 میلی‌لیتر اسید استیک حل شد) به محلول افزوده شد و بعد از همزدن به مدت 15 دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. جذب نمونه‌ها در طول موج‌های 400 و 450 نانومتر خوانده شد و تقاضل این طول موج‌ها محاسبه گردید. جهت تهیه منحنی استاندارد، محلول‌های گالاکتورونیک اسید (25-125 میکروگرم بر میلی‌لیتر) استفاده شد. جذب خوانده شده برای نمونه‌ها در ضریب تصحیح 1/12 ضرب گردید زیرا گالاکتورونیک اسید به‌صورت پلیمری در نمونه وجود داشته است و جذب کمتری را نسبت به حالت مونومری (نمونه استاندارد) نتیجه می‌دهد.

اندازه‌گیری خصوصیات امولسیفایری پکتین

فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون با استفاده از روش دالو و سیمونوا (1995) و یاپو و همکاران (2007) با اعمال تغییرات جزئی

سوسپانسیون اسیدی ضایعات پرتقال در داخل سلول اهمی ریخته شد و فرآیند اهمی اعمال شد. بهترین شرایط استخراج اهمی انتخاب شد و با سایر روش‌ها مورد مقایسه قرار گرفت¹. استخراج به روش متداول نیز در داخل سلول اهمی بدون اعمال جریان الکتریکی صورت پذیرفت.

سامانه مورد استفاده برای انجام گرمایش اهمی و نحوه اتصال اجزاء مدار به‌صورت شماتیک در شکل 1 نشان داده شده است. این سامانه شامل قسمت‌های محفظه اهمی، پاورآنالایزر²، دماسنج، رایانه، ترازوی دیجیتال، دستگاه تنظیم ولتاژ³، سیم‌های رابط و سیرکولاتور است.

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

استخراج پکتین و خالص‌سازی

بعد از انجام فرآیند استخراج با روش‌های ذکر شده، مخلوط داغ پودر ضایعات تا دمای اتاق سرد شد و سپس با استفاده از سانتریفوژ در دور 10000 rpm به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ شد. سپس محلول رویی با استفاده از حجم دو برابر اتانول 96% در دمای 4°C به مدت 1 ساعت نگهداری شد تا پکتین موجود در آن رسوب کند. پکتین رسوب داده شده با استفاده از اتانول 96% شستشو داده شد تا ناخالصی‌هایی از قبیل مونو و دی‌ساکاریدها و ترکیبات فنلی حذف شوند. پکتین حاصله در آن هوای خشک با دمای 60°C تا رسیدن به وزن ثابت (حدود 16 ساعت) خشک شد و سپس توزین گردید. راندمان پکتین با استفاده از رابطه (1) به صورت گرم بر 100 گرم ماده خشک گزارش شد (Wai, Alkarkhi, & Easa, 2010).

$$100 \times (\text{وزن نمونه} / \text{وزن پکتین}) = \text{درصد پکتین} \quad (1)$$

تعیین درجه استریفیکاسیون

درجه استریفیکاسیون نمونه‌های پکتین با استفاده از روش تیتراسیون گزارش شده توسط سانتوس و همکاران (2013) با اندکی اصلاحات اندازه‌گیری شد (Santos et al., 2013). ابتدا 0/1 گرم از نمونه پکتین خشک شده به ارن 250 میلی‌لیتری منتقل شد و با استفاده از 1 میلی‌لیتر اتانول، مرطوب شده و 40 میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده شد. بعد از حدود 10 ساعت همزدن مداوم و انحلال کامل، 2 قطره فنل فتالین (1% وزنی / حجمی) به نمونه اضافه شد و با استفاده از سود 0/1 نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم‌رنگ تیترا شد و به‌عنوان حجم اولیه (V_1) ثبت شد. این حجم مصرفی سود، در واقع اسیدهای کربوکسیلیک آزاد را خنثی نموده است. سپس 10 میلی‌لیتر از سود 0/5 نرمال به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت 15 دقیقه در

2 Power analyser
3 Regulator voltage

1 در این مقاله تنها به شرایط بهینه اهمی پرداخته شده و به علت محدودیت صفحات مقاله از ذکر جزئیات اجتناب شده است.

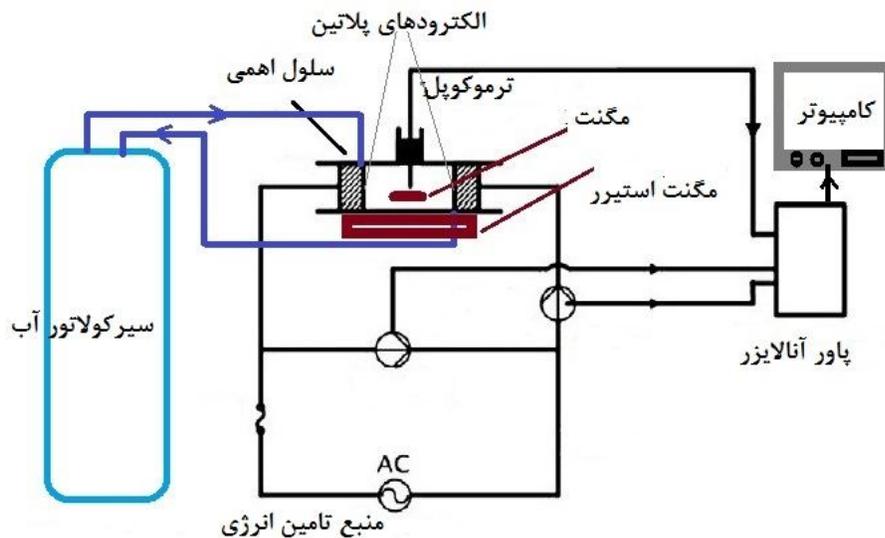
برای مطالعه ویژگی پایداری امولسیون (ES)، 4 نمونه امولسیون برای هر کدام از غلظت‌های پکتین و به ترتیبی که در قسمت ذیل ذکر شد، تهیه گردید. سپس نمونه‌ها به لوله‌های سانتریفوژ 15 میلی‌لیتری منتقل شدند. دو نمونه از آن‌ها (به‌عنوان تکرار) تا دمای 4°C سرد شده و به مدت 5 دقیقه با دور 527 سانتریفوژ شد. حجم اولیه امولسیون (ELV_i) یادداشت گردید و در دمای 4°C نگهداری شد. دو نمونه دیگر از امولسیون‌های تهیه شده به همان ترتیب و در دمای 25°C سانتریفوژ شد و پس از یادداشت حجم اولیه امولسیون، در دمای 25°C نگهداری گردید. پس از دوره‌های یک و 30 روزه، نمونه‌ها دوباره به ترتیبی که گفته شد، سانتریفوژ شده و حجم امولسیون باقی مانده (ELV_r)، اندازه‌گیری شد. پایداری امولسیون با استفاده از رابطه 3-11 محاسبه گردید.

$$ES\% = \frac{ELV_i}{ELV_r} \times 100 \quad (4)$$

و در یک غلظت از پکتین، اندازه‌گیری شد (Yapo et al., 2007). بدین منظور ابتدا محلول 0/5% از نمونه‌های انتخابی پکتین (پکتین بهینه در روش گرمایش اهمی، متداول، آنزیم میکروبی و آنزیم سلولاز Rohament) در آب مقطر تهیه شد. در ادامه 5 میلی‌لیتر روغن آفتابگردان با 5 میلی‌لیتر محلول پکتین مخلوط گردید و 0/02% درصد سدیم آزید برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها به آن اضافه شد. در مرحله بعد جهت تهیه امولسیون، نمونه‌ها توسط هموژنایزر با دور 10000rpm به مدت سه دقیقه مخلوط گردیدند. سپس امولسیون ایجاد شده به لوله سانتریفوژی 15 میلی‌لیتری منتقل و برای مدت پنج دقیقه در دور 527 سانتریفوژ شد. فعالیت امولسیونی با توجه به معادله 3 محاسبه شد.

$$EA\% = \frac{ELV}{W_V} \times 100 \quad (3)$$

EA فعالیت امولسیونی، ELV حجم لایه امولسیون شده و W_V حجم کل سامانه می‌باشد.



شکل 1- تصویر شماتیک مدار بسته اهمی

100 بر ثانیه در بازه زمانی 2 ثانیه برنامه‌ریزی شد. رفتار جریانی محلول‌های تهیه شده در دمای 25°C بررسی شد.

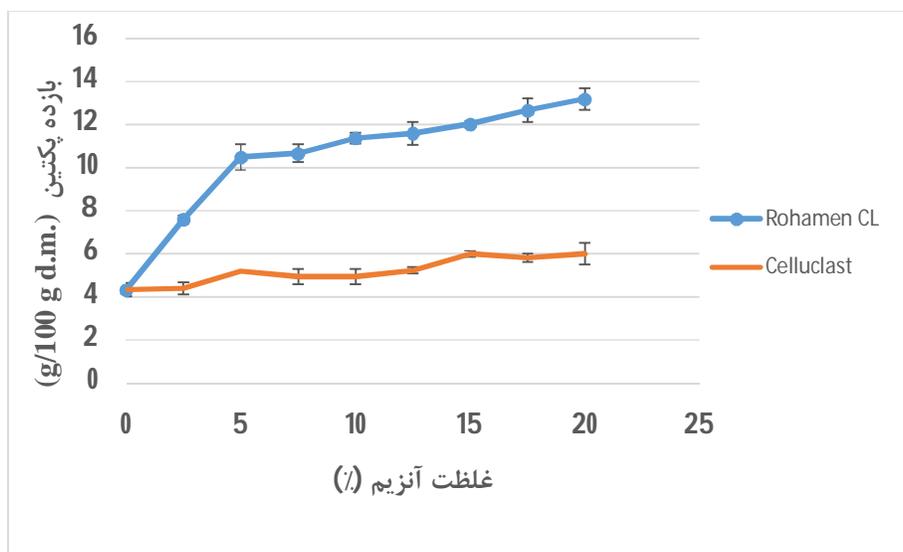
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش‌های مربوط به انتخاب غلظت هر کدام از آنزیم‌ها، زمان استخراج و نسبت S/L و همچنین مقایسه نتایج روش‌های مختلف استخراج با استفاده از طرح یک فاکتور در یک زمان¹ انجام شد و

تعیین گرانروی و رفتار رئولوژیکی عصاره ژل

گرانروی محلول‌های پکتین انتخابی (پکتین بهینه در روش گرمایش اهمی، متداول، آنزیم میکروبی و آنزیم سلولاز Rohament) در غلظت 2٪ وزنی / حجمی توسط ویسکومتر قابل برنامه‌ریزی چرخشی (LVDV-II Pro, Brookfield Engineering Inc., USA) با استفاده از اسپیندل LV اندازه‌گیری شد. حدود 20 میلی‌لیتر از هر نمونه داخل استوانه ویسکومتر ریخته شد و نرخ برشی بین 2 و

غلظت از آنزیمها (2/5-20% نسبت به ماده خشک) به‌طور جداگانه استفاده شد و فرآیند استخراج پکتین در دمای 60 درجه، نسبت S/L 1:20 و زمان 3 ساعت انجام پذیرفت. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود غلظت آنزیمها تاثیر معنی‌داری بر راندمان استخراج پکتین داشت به‌گونه‌ای که با افزایش غلظت آنزیم، بازده پکتین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین شیب افزایش تا غلظت 5% مشاهده شد و بعد از آن روند افزایش کندتر بود. مطابق شکل 2، غلظت‌های 15 و 17/5% به‌ترتیب برای دو آنزیم Celluclast و Rohament جهت انجام مرحله بعدی آزمون انتخاب شد. به نظر می‌رسد دلیل ثابت ماندن بازده استخراج پکتین در غلظت‌های 17/5 و 20%، ناکافی بودن سوبسترا و عدم دسترسی آنزیم‌های مازاد به سوبسترا باشد (Jeong *et al.*, 2014).



شکل 2- تاثیر غلظت آنزیم‌های مختلف بر بازده استخراج پکتین از ضایعات آب پرتقال

مطابق شکل 4، نتایج تاثیر زمان بر بازده پکتین استخراجی حاکی از آن بود که با افزایش زمان استخراج تا 3 ساعت، بازده افزایش یافت و پس از آن ثابت ماند. برای برهمکنش آنزیم و سوبسترا، زمانی مورد نیاز است تا آنزیم بتواند دیواره سلولی را تجزیه کرده و پکتین را آزاد نماید (Liew *et al.*, 2015). اگرچه جونگ و همکاران (2014) و همچنین لیو و همکاران (2015) مشاهده کردند که با افزایش زمان استخراج، بازده افزایش پیدا کرد.

گرچه بازده پکتین استخراجی با آنزیم میکروبی خیلی بیشتر از آنزیم سلوکلاست بود اما فعالیت سلولازی آنزیم Celluclast خیلی بیشتر (700 واحد به ازای گرم) از سلولاز آنزیم میکروبی (22 واحد به ازای گرم) بود (نتایج نشان داده نشده است). لذا به نظر می‌رسد

به‌منظور مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار SPSS 21 و آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

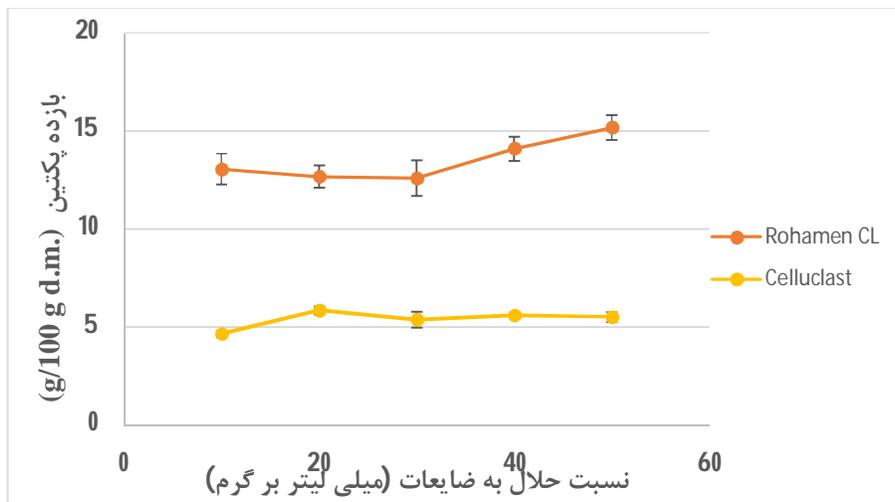
نتایج و بحث

شرایط ملایم استخراج آنزیمی (به علت عدم افزودن اسید) مشکلات فرایند اسیدی را که آلودگی محیط زیست و خوردگی تجهیزات است، حذف می‌کند. استخراج پکتین توسط آنزیم‌ها، روش جایگزین مناسبی نسبت به روش شیمیایی متداول می‌باشد (Dominiak *et al.*, 2014; ptichkina *et al.*, 2008). گرچه تحقیقات برای آنزیم‌های انتخابی، کارآمد و ارزان هنوز محدود است. به همین خاطر در این تحقیق، کارایی چند آنزیم تجاری سلولازی که فعالیت سلولازی بالایی جهت شکستن بافت سلول گیاهی دارند، برای استخراج پکتین مورد بررسی قرار گرفت. مطابق شکل 2، 8

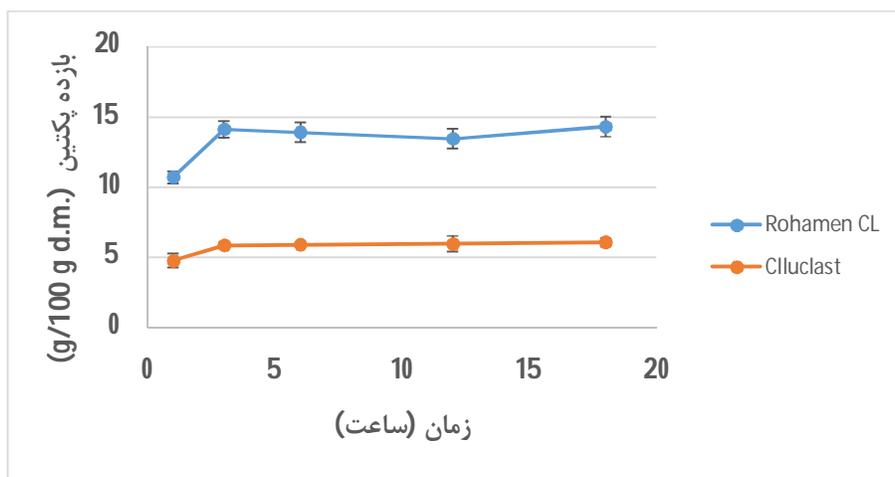
بازده استخراج به نسبت S/L نیز وابسته بود. در مورد آنزیم سلولاز Celluclast، بیشترین راندمان پکتین در نسبت S/L برابر با 1:20 بدست آمد؛ اگرچه آنزیم سلولاز Rohament در نسبت S/L برابر با 1:40 بیشترین راندمان پکتین را موجب شد (شکل 3). بنابراین نسبت S/L 1:20 و 1:40 به‌ترتیب برای دو آنزیم Celluclast و Rohament جهت انجام مرحله بعدی آزمون انتخاب شد. ویکیرا و همکاران (2015) مشاهده کردند که سه آنزیم Celluclast، Econase و Viscoferm در نسبت‌های S/L 1:20، 1:10 و 1:10 موجب استخراج بیشترین میزان پکتین از تفاله سیب شدند (Wikiera *et al.*, 2015). به نظر می‌رسد ساختار و ترکیب سوبسترا و همچنین نوع آنزیم تاثیر بسزایی در بازده استخراج دارند.

می‌توانند به استخراج پکتین از دیواره سلولی کمک نمایند و در جهت سینرژیستی با آنزیم‌های سلولاز و زایلاناز عمل کنند. جئونگ و همکاران (2014) تاثیر مخلوط نسبت‌های مختلف آنزیم Alcalase (به‌عنوان آنزیم تخریب کننده کمپلکس پروتئین - کربوهیدرات) با آنزیم Celluclast (به‌عنوان آنزیم تجزیه‌کننده برخی از پیوندهای کربوهیدرات) را برای استخراج پکتین به کار بردند و تاثیر سینرژیستی مخلوط دو آنزیم را بر استخراج تایید کردند.

آنزیم‌های دیگری غیر از سلولاز در کمپلکس آنزیم میکروبی وجود داشته‌اند و به استخراج پکتین کمک کرده‌اند. گرچه قسمت عمده دیواره سلولی گیاهان از سلولز و همی‌سلولز تشکیل شده است اما ترکیباتی نظیر کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها نیز در ساختار سلول وجود دارند (McCann and Roberts, 1991). برخی از محققین (Zykwinska *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2015) گزارش کردند که آنزیم‌های زایلاناز، آنزیم‌های تخریب کننده کمپلکس پروتئین - کربوهیدرات، آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین و پروتوپکتینازها



شکل 3- تاثیر نسبت ماده جامد به حلال بر بازده پکتین استخراجی از ضایعات آب پرتقال با استفاده از آنزیم‌های مختلف



شکل 4- تاثیر زمان استخراج بر بازده پکتین استخراجی از ضایعات آب پرتقال با استفاده از آنزیم‌های مختلف

بهینه‌سازی ذکر نشده‌اند). بنابراین شرایط استخراج متداول (به‌عنوان کنترل) نیز همانند شرایط بهینه اهمی (بدون اعمال جریان الکتریکی) انجام شد. نتایج حاکی از آن بود که روش اهمی به‌طور معنی‌داری

مقایسه روش‌های استخراج پکتین

بهترین شرایط استخراج پکتین به روش اهمی شامل شیب ولتاژ 15 ولت بر سانتی‌متر، دمای 90 درجه و زمان 30 دقیقه بود (داده‌های

این دو آنزیم مربوط به فعالیت خیلی بالای سلولاز، زایلاناز و ماناز بود اگرچه فعالیت پکتیننازی خیلی پایین بود. Zykwinska و همکاران (2009) گزارش کردند که محلول‌های آنزیمی که دارای بیشترین فعالیت سلولازی یا زایلانازی هستند، احتمال بیشتری برای آزادسازی پکتین از باقی مانده سلول‌های گاهی را دارند.

مقایسه بازده پکتین‌های به‌دست آمده حاکی از آن بود که توانایی روش اسیدی (متداول و اهمی) برای استخراج پکتین، بیشتر از روش‌های آنزیمی بود که مطابق نتایج ودادی (1394) و دومینیاک و همکاران (2014) و مخالف نتایج ویکیرا و همکاران (2015) بود. این نتایج می‌تواند ناشی از شرایط استخراج متفاوت (دما، زمان و pH استخراج) و همچنین منبع متفاوت (پوست پرتقال، سیب و ...) باشد (Voragen et al., 1995).

مطابق جدول 1، همه پکتین‌های استخراجی از نوع پکتین با درجه استری بالا بودند. همچنین درجه استری پکتین‌های استخراجی با روش‌های اهمی و متداول تفاوت معنی‌داری با همدیگر نداشتند ولی به‌طور معنی‌داری از پکتین‌های استخراجی با روش‌های آنزیمی بیشتر بودند. علت این امر را می‌توان به فعالیت پکتین متیل استرازی در آنزیم‌ها نسبت داد که موجب جدا کردن گروه‌های استری (- De esterification) از پکتین شده‌اند. میزان گالاکتورونیک اسید پکتین‌های استخراجی با روش‌های اهمی و متداول و آنزیم Rohament تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند اگرچه گالاکتورونیک اسید پکتین استخراجی با آنزیم Celluclast کمتر از سایرین بود که علت آن را می‌توان توانایی اندک این آنزیم در استخراج پکتین دانست. بنابراین بیشترین کمیت و کیفیت پکتین در روش نوین گرمایش اهمی و کمترین کمیت و کیفیت پکتین با استفاده از آنزیم Celluclast حاصل شد.

موجب افزایش بازده پکتین شد. به‌نظر می‌رسد که علت افزایش بازده در روش اهمی، سازوکار الکتروپوراسیون (منافذ ایجاد شده بر روی غشا به خاطر جریان الکتریکی متناوب) باشد (Cho, Yousef, & Sastry, 1996). de Oliveira و همکاران (2015) گزارش کردند که میدان الکتریکی ملایم (در دمای 45 درجه و ولتاژ 50 و 100 ولت) موجب افزایش بازده پکتین نسبت به روش متداول شد. Loypimai و همکاران (2015) مشاهده کردند که بازده رنگدانه طبیعی سبوس برنج سیاه با استفاده از روش اهمی بیشتر از روش استفاده از بخار بود زیرا شکست و نفوذپذیری غشای سلولی و در نتیجه انتشار رنگدانه از سراسر غشا به علت اعمال جریان الکتریکی افزایش یافت.

بازده استخراج پکتین با استفاده از آنزیم سلولاز Celluclast در شرایط بهینه (5/93%) به‌صورت قابل توجهی کمتر از آنزیم Rohament (10/8%) بود. Wikiera و همکاران (2015) فعالیت پکتیننازی را در آنزیم تجاری سلوکلاست گزارش کردند که می‌تواند موجب کاهش بازده شود. بازده پکتین بدست آمده با استفاده از روش‌های اهمی (14/33%) و متداول (13/53%) نیز به‌طور معنی‌داری بیشتر از آنزیم Rohament بود. بنابراین روش نوین گرمایش اهمی (که در شرایط اسیدی انجام شد) توانایی بیشتری برای استخراج پکتین از ضایعات پرتقال داشت. نتایج Wikiera و همکاران (2015) جهت مقایسه بازده پکتین استخراجی توسط آنزیم با روش متداول (دمای 85 درجه، pH برابر با 2 و زمان 3 ساعت در نسبت S/L برابر با 1:20) نیز بیانگر آن بود که در شرایط بهینه استخراج، بازده پکتین استخراجی دو آنزیم Celluclast و Viscoferm به ترتیب 18/95 و 17/78% بود که بیشتر از روش متداول اسیدی (14/52%) بود (Wikiera et al., 2015). آن‌ها همچنین دریافتند که بازده بیشتر

جدول 1- مقایسه تاثیر روش‌های مختلف استخراج بر بازده، درجه استری و میزان گالاکتورونیک اسید پکتین

روش استخراجی	راندمان (گرم به ازای 100 گرم ماده خشک)	درجه استری (%)	میزان گالاکتورونیک اسید (%)
روش گرمایش اهمی (15 ولت بر سانتی متر، 90 درجه و 30 دقیقه)	14/33 ± 0/26 ^{ab}	74/62 ± 2/66 ^a	72/70 ± 4/55 ^a
روش گرمایش متداول (90 درجه و 30 دقیقه)	13/53 ± 0/21 ^a	77/78 ± 2/66 ^a	70/59 ± 3/62 ^a
روش آنزیمی (آنزیم سلولاز Rohament)	10/85 ± 0/95 ^c	72/35 ± 1/70 ^b	70/43 ± 2/71 ^a
روش آنزیمی (آنزیم سلولاز Celluclast)	5/93 ± 0/17 ^d	66/21 ± 1/98 ^c	59/86 ± 2/62 ^b

روغنی بسیار ناچیز بود. همانطور که در جدول شماره 2 مشاهده می‌شود، فعالیت امولسیفایری امولسیون‌های پکتین استخراجی با روش‌های اهمی و متداول به‌ترتیب 3/47 ± 65/47 و 3/77 ± 67/18% بود که حاکی از فعالیت امولسیفایری یکسان پکتین استخراجی با این دو روش است. پکتین استخراجی با روش آنزیمی فاقد فعالیت امولسیفایری بود و به‌نظر می‌رسد آنزیم‌ها در عین

فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون

فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون پکتین‌های استخراجی به روش‌های اهمی و متداول در شرایط بهینه (دمای 90 درجه و زمان 30 دقیقه) با تهیه محلول 0/5% پکتین بررسی شد. پس از سانتیفریژ امولسیون‌ها، سه فاز شامل فاز روغن در قسمت بالا، فاز آبی در کف و فاز امولسیون بین دو فاز مذکور مشاهده شد. فاز روغنی

پایداری امولسیون‌های بیشتری نسبت به پکتین استخراجی از پوست نارنج (89%) و چغندرقد (62%) که توسط حسینی و همکاران (2016) و Huang و همکاران (2001) گزارش شده است، دارند. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پکتین استخراجی از ضایعات پرتقال در شرایط اسیدی با استفاده از دو روش اهمی و متداول توانایی تولید و پایدارسازی امولسیون‌های روغن در آب را دارا هستند درحالی که پکتین استخراجی با روش آنزیمی فاقد چنین ویژگی‌ای می‌باشد.

استخراج پکتین، موجب شکستن و تجزیه نسبی آن شده اند. حسینی و همکاران (2016) و Yapo و همکاران (2007) فعالیت امولسیفایری پکتین استخراجی از پالپ چغندرقد و نارنج را به ترتیب 40/7 و 47/1% گزارش کردند. بنابراین پکتین استخراجی از ضایعات پوست پرتقال با روش‌های متداول و اهمی، فعالیت امولسیفایری بیشتری نسبت به پکتین چغندرقد و نارنج داشته‌اند. مطابق جدول 2، پایداری امولسیون‌های هر دو پکتین استخراجی با روش‌های اهمی و متداول در هر دو دمای محیط و یخچال بیش از 90% بود. بنابراین هر دو پکتین

جدول 2- مقایسه فعالیت و پایداری امولسیفایری پکتین استخراجی با روش‌های مختلف

پایداری امولسیفایری				فعالیت امولسیفایری		خصوصیت
30		1		25		زمان نگهداری (روز)
25	4	25	4	25		دما (درجه سانتی‌گراد)
91/88± 1/37	94/50 ± 0/52	93/18 ± 0/46	96/35 ± 1/27	65/47 ± 3/47 ^a		روش استخراج متداول
94/87± 1/59	97± 0/63	95/06 ± 1/84	97 ± 0/32	67/18 ± 3/77 ^a		روش استخراج اهمی
-	-	-	-	عدم فعالیت		روش استخراج آنزیمی (آنزیم Rohament)

زمان کافی برای این پدیده‌های مولکولی وجود ندارد و بنابراین گرانروی محلول پلیمر زیستی نسبتاً بالا است. مطابق شکل 5، گرانروی ظاهری پکتین‌های استخراجی به روش آنزیمی بسیار کمتر از پکتین‌های استخراجی به روش اسیدی (متداول و اهمی) بود. تغییرات شیمیایی در پکتین نیز می‌تواند موجب ایجاد اثرات متفاوتی بر ویژگی‌های عملکردی آن شود (Liang et al., 2015). وانگ و همکاران (2016) بیان کردند که گرانروی بالاتر پکتین استخراجی از پوست انبه با استفاده از روش متداول نسبت به روش فراصوت، مربوط به وزن مولکولی بالاتر پکتین می‌باشد و نتیجه گرفتند که گرانروی پکتین توسط دو عامل وزن مولکولی و همچنین میزان گالاکتورونیک اسید تحت تاثیر قرار می‌گیرد و هر دو عامل، اثر مثبتی بر گرانروی محلول دارند.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که غلظت آنزیم، نسبت ماده جامد به حلال و زمان فرآیند تاثیر معنی‌داری با بازده پکتین داشتند و افزایش هر سه متغیر ابتدا موجب افزایش بازده شد و سپس اثر معنی‌داری بر آن نداشت. اگرچه آنزیم سلولاز Rohament به‌طور معنی‌داری موجب افزایش بازده پکتین نسبت به آنزیم Celluclast شد اما بازده آن نسبت به روش‌های استخراج اسیدی کمتر بود. اعمال فرآیند گرمایش اهمی در شرایط اسیدی موجب استخراج بیشترین میزان پکتین از ضایعات پرتقال شد و بعد از آن روش متداول بیشترین بازده پکتین را به‌دست داد. پکتین استخراجی از ضایعات پرتقال در شرایط اسیدی با استفاده از دو روش اهمی و

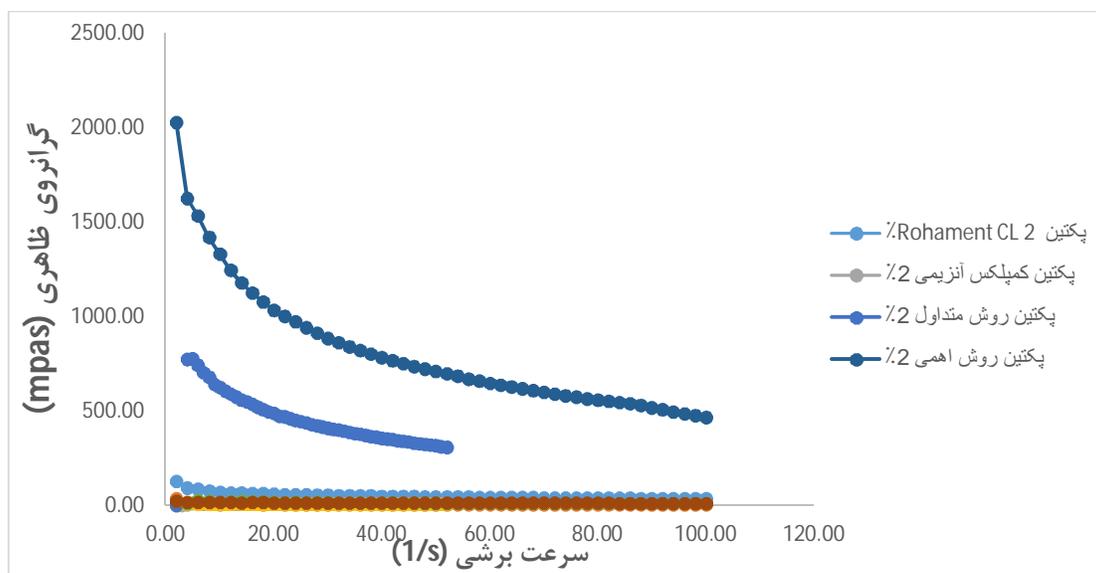
اندازه‌گیری گرانروی پکتین

گرانروی و رفتار جریان پکتین‌های استخراجی به روش‌های اهمی و متداول در شرایط بهینه (دمای 90 درجه و زمان 30 دقیقه) و پکتین‌های استخراجی با روش آنزیمی در شرایط بهینه (آنزیم سلولاز Rohament CL در غلظت 17/5%، نسبت S/L برابر با 1:40 و زمان 3 ساعت و کمپلکس آنزیم میکروبی آسپرژیلوس نایجر) با تهیه محلول 2% پکتین در دمای 25 درجه بررسی شد.

همانطور که در شکل 5 مشاهده می‌شود رفتار محلول پکتین‌های استخراجی با استفاده از روش‌های اهمی و متداول، متفاوت از پکتین‌های استخراجی توسط آنزیم‌ها بود. در غلظت 2% پکتین‌های استخراجی با روش‌های آنزیمی، محلول پکتین رفتار نیوتنی از خود نشان داد که با افزایش نرخ برشی، گرانروی ثابت می‌ماند. اما در غلظت 2% پکتین‌های استخراجی با روش‌های اهمی و متداول، رفتار محلول پکتین از نیوتنی به نرم‌شونده با برش یا شبه پلاستیک تغییر پیدا کرد و با افزایش نرخ برشی، گرانروی کاهش یافت که مشابه نتایج چن و همکاران (2014) بود. چن و همکاران (2014) ویژگی‌های رئولوژی پکتین استخراجی از *Abelmoschus esculentus* را مورد مطالعه قرار دادند و بیان کردند که پکتین تهیه شده از این محصول در غلظت کم دارای رفتار جریانی نیوتنی است و با افزایش غلظت، رفتار از نیوتنی به شبه پلاستیک تغییر می‌کند. در واقع گرانروی علاوه بر غلظت، به سرعت برشی نیز وابسته بود. منشا این رفتار شبه پلاستیک آن است که تنش برشی موجب شکستن اینترکشن‌های فیزیکی ضعیف که پلی‌مرهای زیستی را کنار هم نگه می‌دارد، می‌شود (McClements, 2004). در تنش برشی‌های کم،

روش نوین گرمایش اهمی و حتی روش متداول اسیدی موجب استخراج پکتین با کمیت و کیفیت بهتری نسبت به روش‌های آنزیمی شدند.

متداول توانایی تولید و پایدارسازی امولسیون‌های روغن در آب را دارا بودند و گرانیوی بسیار بالایی را ایجاد کردند درحالی که پکتین استخراجی با روش آنزیمی فاقد چنین ویژگی‌هایی بودند. بنابراین



شکل 5- رفتار جریان‌ی پکتین‌های استخراجی در شرایط بهینه با استفاده از روش‌های مختلف در غلظت‌های 0/5 و 2%

منابع

- Chen, Y., Zhang, J. G., Sun, H. J., & Wei, Z. J. (2014). Pectin from *Abelmoschus esculentus*: Optimization of extraction and rheological properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 498–505.
- Cho, H.Y., Yousef, A.E., & Sastry, S.K. (1996). Growth kinetics of *Lactobacillus acidophilus* under ohmic heating. *Biotechnology and Bioengineering*, 49, 334–340.
- de Oliveira, C. F., Giordani, D., Gurak, P. D., Cladera-Olivera, F., & Marczak, L. D. F. (2015). Extraction of pectin from passion fruit peel using moderate electric field and conventional heating extraction methods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 201–208.
- Dominiak, M., Søndergaard, K. M., Wichmann, J., Vidal-Melgosa, S., Willats, W. G. T., Meyer, A. S. & Mikkelsen, J. D. (2014). Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin. *Food Hydrocolloids*, 40: 273-282.
- Ebrahimzadeh, M. A., Azadbakht, M. 2006, Pectin extraction and comparison the yield, DE and galacturonic acid from some citruse peel, *Medical Science Journal of Mazandaran*, 16 (54): 52-59.
- Fathi, B., Maghsoudloo, Y., Ghorbani, M., Khomeiri, M. 2012, The effect of pH, temperature, and time of acidic extraction on the yield and quality properties of pectin from Nutty Pumpkin, *IFSTRJ*, 22: 465-475.
- Guo, X., Han, D., Xi, H., Rao, L., Liao, X., Hu, X., & Wu, J. (2012). Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: a comparison. *Carbohydrate polymers*, 88(2), 441–448.
- Hosseini, S. S., Khodaiyan, F., & Yarmand, M. S. (2016). Aqueous extraction of pectin from sour orange peel and its preliminary physicochemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 920-926.
- Huang, X., Kakuda, Y., & Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 15, 533–542.
- Keramat, J., Kabir, Gh., Ghenaati, B. 2002. Investigating the quality and quantity of the pectin extracted from the orange juice concentrate, *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 6 (4): 141-150.
- Koubala, B.B., Kansci, G., Mbome, L.I., C, Crepeau, 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 (7), 1345–1351.
- Loypimai, P., Moongngarm, A., Chottanom, P., & Moontree, T. (2015). Ohmic heating-assisted extraction of anthocyanins from black rice bran to prepare a natural food colourant. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 27, 102-110.

- McClements, D. J. (2004). *Food emulsions: Principles, practices, and techniques* (2nd ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Maran, J. P., Swathi, K., Jeevitha, P., Jayalakshmi, J., & Ashvini, G. (2015). Microwave-assisted extraction of pectic polysaccharide from waste mango peel. *Carbohydrate polymers*, 123, 67-71.
- Mesbahi, Gh., Jamalian, J. 2002, Extraction of the pectin from the root beet waste and investigating its application in the food products, *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 6 (125): 2-13.
- Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current opinion in plant biology*, 11(3), 266-277.
- Ptichkina, N., Markina, O., & Rumyantseva, G. (2008). Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes. *Food hydrocolloids*, 22(1): 192-195.
- Santos, J. D. G., Espeleta, A. F., Branco, A., & de Assis, S. A. (2013). Aqueous extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate polymers*, 92(2), 1997-2001.
- Sato, M. d. F., Rigoni, D. C., Canteri, M. H. G., Petkowicz, C. L. d. O., Nogueira, A., & Wosiacki, G. (2011). Chemical and instrumental characterization of pectin from dried pomace of eleven apple cultivars. *Acta Scientiarum Agronomy*, 33(3): 383-389.
- Scott, R. W. (1979). Colorimetric determination of hexuronic acids in plant materials. *Analytical chemistry*, 51(7), 936-941.
- Vosoughi, M. 1996. Production and purification of the pectin from apple waste, Research report No. 164, Research Institute of Agricultural Engineering, Iran.
- Wai, W. W., Alkarkhi, A. F., & Easa, A. M. (2010). Effect of extraction conditions on yield and degree of esterification of durian rind pectin: An experimental design. *Food and Bioproducts Processing*, 88(2), 209-214.
- Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., Ye, X., & Liu, D. (2015). Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. *Food chemistry*, 178, 106-114.
- Wang, M., Fan, C., Zhao, K., Huang, B., Hu, H., Xu, X., Pan, S., & Liu, F. (2016). Characterization and functional properties of mango peel pectin extracted by ultrasound assisted citric acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 794- 803.
- Wikiera, A., Mika, M., & Grabacka, M. (2015). Multicatalytic enzyme preparations as effective alternative to acid in pectin extraction. *Food Hydrocolloids*, 44, 156-161.
- Yapo, B. M. (2011). Pectic substances: From simple pectic polysaccharides to complex pectins—A new hypothetical model, *Carbohydrate Polymers*, 86 (2), 373-385.
- Yapo, B.M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., & Paquot, M., (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, 100, 1356–1364.
- Yin, Y. g., Fan, X. d., Liu, F. x., Yu, Q. y., & He, G. d. (2009). Fast extraction of pectin from apple pomace by high intensity pulsed electric field. *Journal of Jilin University (Engineering and Technology Edition)*, 5, 021.

The comparison between enzymatic, Ohmic and conventional methods on the yield and quality properties of the extracted pectins from orange waste

H. Saberian¹, Z. Hamidi-Esfahani^{2*}, H. Ahmadi Gavlighi², M. Barzegar²

Received: 2016.12.18

Accepted: 2017.03.15

Introduction: Ohmic heating or direct resistance heating is one of the several electromagnetic based methods, occurs when alternating electrical current is passed through a conductive material, with the primary purpose of heating it due to the electrical resistance of the foods. There are many applications that can use ohmic treatment technology, such as blanching, evaporation, dehydration, fermentation, extraction, sterilization and pasteurization of foods (Saberian *et al.* 2015; Assiry *et al.* 2010). Pectins are complex heteropolysaccharides, consisting of α -1, 4-linked D-galacturonic acid units and interrupted by L-rhamnose residues with side chains of neutral sugars, mainly L-rhamnose, L-arabinose and D-galactose. In the industrial extraction process, pectin is usually extracted from waste plant material such as citrus peels, apple pomace, sugar beet pulp and sunflower head using hot water (60–100°C) acidified with a mineral acid (such as sulfuric, phosphoric, nitric, hydrochloric) or organic acid (especially citric acid) within the pH of 1.5–3 for 0.5–6 h. The aim of this study was to explore the effect of enzymatic extraction on the yield and quality properties (degree of esterification, Galacturonic acid, emulsifying properties and viscosity) of the pectin, and to compare this pectin with the pectins extracted by ohmic and conventional methods. Finally, the best extraction method was selected.

Materials and Methods: Extraction of pectin was done with the assistance of an ohmic heating system at working frequency of 50 Hz under different parameters including voltage gradient (7-15 V/cm), temperature (50-90°C), and time (5-30 min). Then, the effect of enzyme dose (0-20% v/w) of Celluclast and Rohament CL, solid/liquid ratio (S/L ratio) (1:10 to 1:50 g/ml) and extraction time (1-18 h) on the yield of the extracted pectin from orange waste was investigated.

After the time of extraction (enzymatically, ohmically or conventionally), the sample was cooled to room temperature and centrifuged (10000 rpm, 15 min), and the supernatant was precipitated with two volumes of 96% (v/v) ethanol at 4 °C for 1 h. The precipitated pectin mass was washed twice with 96% ethanol in order to remove impurities. The pectin was dried in a forced circulation oven at 55°C until a constant weight (14 h).

Galacturonic acid content was determined according to Scott (1979) with some modifications. The degree of esterification (DE) of pectin samples was determined by titrimetric method according to Santos *et al.* (2013).

Emulsifying activity and emulsion stability were measured according to the method described by Yapo *et al.* (2007).

The viscosity and the flow behavior of the selected pectin solutions (2%, w/v) extracted conventionally and ohmically at 90°C for 30 min (the optimum extraction condition) and the highest pectins extracted enzymatically, were measured at 25°C.

Pectin powder samples were mixed with KBr and pressed into KBr pellets before FTIR analysis. PerkinElmer FTIR spectra (PerkinElmer, Frontier model, USA) was applied at the transmission mode in the frequency range of 4000–400 cm^{-1} at a resolution of 1 cm^{-1} .

Results were analyzed by analysis of variance (ANOVA) using SPSS 19 statistical software and the Duncan's test with 95% confidence interval was used to compare the means of the tests. The results which were presented in this research, have been obtained from the average values of the minimal two replicate experiments.

Results and Discussion: first, the effect of enzyme dose, solid/liquid ratio (S/L ratio) and time of extraction on the yield of the extracted pectin from orange waste by using Celluclast and Rohament CL enzymes was studied. Then, the yield, of esterification, galacturonic acid, emulsifying properties and viscosity behavior of the pectins

1 and 2. Ph.D Student and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

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

extracted in the optimum condition by enzymes were compared to the extracted pectins by ohmic and conventional methods. Results indicated that the highest yield of pectin was obtained by using Celluclast and Rohament CL enzymes at enzyme doses of 15 and 17.5%, S/L ratio of 1:20 and 1:40 (g/ml) and time of 3 h for both, which were 5.92 and 10.70 %, respectively. The highest yield of pectin by ohmic heating was obtained at the voltage gradient of 15 v/cm, the temperature of 90°C during 30 min (14.33%), which was higher than the amount obtained by conventional method (13.53%) may be due to the electroporation (disruptive pores which were made on the cell membrane by the electric field) (Cho *et al.*, 1996). de Oliveira *et al.* (2015) reported that the moderate electric field (at 45°C, 50 and 100 V) extracted the pectin significantly ($p < 0.05$) more than the conventional extraction. The emulsifying activity of the extracted pectins by ohmic and conventional methods were 65.47 and 67.18%, respectively, although the pectins extracted by enzymatic method had not any emulsifying activity. It seems that during the pectin extraction, enzymes hydrolyzate the pectins. The viscosity of the pectins extracted by ohmic and conventional methods at the concentration of 2% was higher than those obtained from the enzymatic method. Therefore, pectin extracted by ohmic and conventional methods had the highest yield, emulsifying properties, and viscosity.

Keywords: Extraction of pectin Orange waste, Enzymatic method, Ohmic heating, Quality propertie.

بررسی ترکیبات فعال زیستی آب آلبالو تلخه (*White mahaleb L.*)

فیروزه بذرافکن¹ - سهیلا زرین قلمی^{2*} - علی گنجولو²

تاریخ دریافت: 1395/03/26

تاریخ پذیرش: 1396/02/02

چکیده

در این پژوهش میزان ویتامین ث، ترکیبات فنل کل (TPC)، فلاونوئید کل (TFC)، آنتوسیانین کل و همچنین ارزیابی فعالیت ضداکسایشی و ضد میکروبی، آب آلبالو تلخه (*White mahaleb L.*) مورد بررسی قرار گرفت. میزان ویتامین ث به روش اسپکتروفتومتری، مقدار فنل کل با روش فولین سیوکالتیو، فلاونوئید کل توسط روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید، آنتوسیانین کل به روش متانول اسیدی و فعالیت ضداکسایشی به روش‌های درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین (DPPH) و قدرت احیاء‌کنندگی هیدروژن پراکسید انجام گرفت. بررسی فعالیت ضد میکروبی آب آلبالو تلخه بر سویه‌های میکروبی اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، اسپرژیلوس فلاووس و پنی‌سیلیوم کرایسوزوم، به روش انتشار چاهک و در نهایت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی به روش ماکرودایلوشن براث و حداقل غلظت کشندگی با کشت سطحی انجام گردید. مطابق نتایج به‌دست آمده، میزان ویتامین ث $39/26 \pm 0/01$ میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر، مقدار فنل کل $303/00 \pm 0/06$ میلی‌گرم گالیک اسید در 100 میلی‌لیتر، فلاونوئید کل $17/00 \pm 0/01$ میلی‌گرم روتین در میلی‌لیتر و میزان آنتوسیانین کل $871/63 \pm 0/93$ میلی‌گرم سیانیدین در 100 میلی‌لیتر آب میوه تعیین شد. میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاء‌کنندگی هیدروژن پراکسید توسط آب آلبالو تلخه به ترتیب $72/30$ و $6/33$ درصد مشخص شد. آب آلبالو تلخه اثر بازدارندگی روی کپک‌های اسپرژیلوس فلاووس و پنی‌سیلیوم کرایسوزوم نداشت و حداقل غلظت مهارکنندگی آن بر 10^2 CFU/ml از باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب در غلظت‌های $0/9$ و $0/8$ درصد از آب میوه مشاهده شد. همچنین اثر کشندگی بر هیچ یک از باکتری‌های مورد بررسی مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: آب آلبالو تلخه، ترکیبات فعال زیستی، فعالیت ضداکسایشی، فعالیت ضد میکروبی

مقدمه

در سال‌های اخیر به منابع طبیعی حاوی رنگدانه‌های آبی - بنفش توجه بسیاری شده است. تحقیقات مختلف انجام شده روی میوه‌های حاوی رنگدانه‌های آبی یا قرمز تیره، بیانگر غنی بودن آن‌ها از ترکیبات فعال زیستی و سلامت بخش طبیعی است. مطابق نتایج به‌دست آمده، ترکیبات فعال زیستی فنلی، دامنه گسترده‌ای از خواص بیولوژیکی از جمله ممانعت از بروز حساسیت و التهاب، محافظت از قلب و گشادکننده عروق، پیشگیری از بسیاری از بیماری‌های مزمن و خواص ضداکسایشی و ضد میکروبی را نشان می‌دهند (Balasundram et al., 2006; Dai and Mumper, 2010; Wu et al., 2004). ضداکسایش‌ها که سبب پیشگیری یا مهار فرایندهای اکسیداسیون در بدن انسان و محصولات غذایی می‌شوند در دو گروه سنتزی و طبیعی قرار دارند. اما از آن جایی که مواد سنتزی می‌توانند عامل بروز بسیاری از سرطان‌ها و بیماری‌ها باشند، به استفاده از انواع مختلف طبیعی توجه بیشتری شده است (Babbar et al., 2011).

در پژوهشی آیری و همکاران (2012) ترکیبات فعال زیستی از جمله میزان آنتوسیانین کل، میزان کومارین و اسید فنولیک در میوه، هسته و لیکور حاصل از میوه آلبالو تلخه را اندازه‌گیری و شناسایی

آلبالو تلخه یا محلب با نام علمی *Prunus mahaleb*، میوه‌ای کروی شکل و به رنگ بنفش تیره است. این میوه از خانواده *Rosaceae* است که در زبان انگلیسی *White mahaleb* نامیده می‌شود. زیستگاه طبیعی این میوه در بیشتر نقاط دنیا از جمله شرق و مرکز اروپا و غرب آسیا و در گستره ایران، استان‌های آذربایجان، کردستان، لرستان، اصفهان، چهارمحال و بختیاری، یزد، زنجان و همدان است. به دلیل حضور رنگدانه‌های آنتوسیانین بنفش رنگ و مفید برای سلامتی، این میوه در طب سنتی بسیار مورد توجه بوده است. از خواص دارویی مهم این میوه می‌توان به تقویت قلب، شش، جگر، کبد، طحال، رفع درد پهلوی، خارج کردن خلط‌های سینه ناشی از سینوزیت و همچنین درمان غش اشاره کرد (قارونی و همکاران 1391; Ieri et al., 2012; Mariod et al., 2010).

1 و 2- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان.

* - نویسنده مسئول: (Email: zaringhalami@znu.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1396i0.56800

در پژوهش Chitsaz (2006) اثرات ضد میکروبی عصاره الکلی گیاه زرشک را به دلیل دارا بودن ترکیبات فراوان فنلی و آلکالوئیدی گزارش شده است. این در حالی است که از عصاره آبی و جوشانده این گیاه هیچ نوع فعالیت ضد میکروبی گزارش نشده است.

با توجه به اینکه میوه آلبالو تلخه، به رنگ آبی-بنفش است و در مناطق مختلفی از کشور ما به ویژه غرب ایران، به وفور یافت می‌شود و سرشار از آنتوسیانین‌های مفید برای سلامتی است و این که درخت مذکور در ایران فقط به عنوان پیوند پایه گیلاس مورد استفاده قرار می‌گیرد و از میوه‌های آن در صنایع غذایی هیچ‌گونه استفاده‌ای نمی‌شود، لذا هدف از این پژوهش ارزیابی میزان فنل کل و بررسی ویژگی‌های ضدکاسایشی و ضد میکروبی این میوه مفید جهت استفاده در صنعت غذا بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های آلبالو تلخه از 5 درخت انتخاب شده در دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان به صورت کاملاً تصادفی جمع‌آوری گردید و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد. پس از تمیز کردن و شست و شو، میوه‌ها تا قبل از انجام آزمون‌های بعدی، در فریزر و در دمای 18- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

نمونه‌ها جهت یخ‌زدایی در دمای محیط قرار داده شد و سپس هسته‌های آن‌ها به صورت دستی جدا گردید. به منظور تهیه آب آلبالو تلخه، میوه‌ها با استفاده از دستگاه مخلوط‌کن خانگی (GSC-911)، چین) کاملاً همگن شد و به منظور جداسازی پالپ، نمونه همگن شده با استفاده از صافی پارچه‌ای صاف گردید. آب آلبالو تلخه آماده شده، به منظور بررسی ویژگی‌های مختلف کیفی مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی ترکیبات فعال زیستی

اندازه‌گیری ویتامین ث

میزان ویتامین ث به روش اسپکتروفتومتری تعیین شد. در این روش ابتدا 12/5 میلی‌لیتر از آب آلبالو را به 50 میلی‌لیتر پتاسیم‌دی‌هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) 10 میلی‌مولار اضافه شد و پس از 10 ثانیه هم‌زدن، 0/5 میلی‌لیتر از محلول با استفاده از پتاسیم‌دی‌هیدروژن فسفات به حجم 5 میلی‌لیتر رسانده شد. سپس جذب نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (SPECORD 250 UV/VIS، آلمان) در طول موج 265 نانومتر خوانده شد. از اسید آسکوربیک خالص برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید. منحنی جذب در برابر غلظت اسید آسکوربیک بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسم شد و با استفاده از معادله رگرسیون، میزان ویتامین ث نمونه بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسید آسکوربیک تعیین شد (Uggla et al., 2003).

کردند. نتایج نشان داد که در بافت تازه میوه آلبالو تلخه سه ترکیب اصلی از ترکیبات فنلی از جمله مشتقات اسید فنولیک (O-کوماریک اسید گلوکوزید)، گلیکوزیدهای کوئرستین و آنتوسیانین‌ها (سیانیدین 5،3-دیگلوکوزید، سیانیدین 3-ساموبیوسید، سیانیدین 3-ایکسلوسیل-روتینوزید و سیانیدین 3-روتینوزید) وجود دارد. همچنین ترکیبات کومارین شناسایی شده در بخش هسته به نسبت بیشتری (0/87 میلی‌گرم در گرم نمونه) نسبت به بافت میوه (0/63 میلی‌گرم در گرم نمونه) گزارش شد. به علاوه میزان فلاونوئید در پوست و پالپ (0/55 میلی‌گرم در گرم تعیین شد. در لیکور میوه آلبالو تلخه نیز میزان آنتوسیانین 16/5 درصد، اسیدهای فنولیک 43/3 درصد، کومارین 36/2 درصد و فلاونوئید 4 درصد از کل ترکیبات گزارش گردید (Ieri et al., 2012).

در مطالعه‌ای مورنو-مونتورو و همکاران (2015) میزان فنل کل در آب انگور قرمز، آب پرتقال، آب سیب، آب آناناس، آب گریپ‌فروت، آب انار، آب توت‌فرنگی را بررسی کردند. بیش‌ترین ترکیبات فنل در آب توت‌فرنگی و آب انگور قرمز مشاهده شد. همچنین میزان آنتوسیانین و فلاونوئید در آب انگور قرمز به ترتیب 285 و 98 میلی‌گرم بر لیتر گزارش کردند. آنها همچنین بیان کردند بین میزان فنل کل و فعالیت ضدکاسایشی رابطه مثبت معنی‌داری وجود دارد (Moreno-Montoro et al., 2015).

در پژوهشی دیگر پرتوزاتی و همکاران در سال 2014 عصاره هیدروفیل و لیپوفیل 10 رقم زغال‌اخته را به منظور اندازه‌گیری فعالیت ضدکاسایشی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که زغال‌اخته دارای میزان بالایی از فنل کل، آنتوسیانین کل و منبع خوبی از کاروتنوئید است و بین مقدار این ترکیبات و فعالیت ضدکاسایشی رابطه مستقیم وجود دارد. به علاوه عصاره هیدروفیل نسبت به عصاره لیپوفیل بیشترین فعالیت ضدکاسایشی را نشان می‌دهد (Pertuzatti et al., 2014).

علاوه بر تمایل به استفاده از ترکیبات ضدکاسایشی طبیعی، با توجه به ویژگی ضد میکروبی بیشتر ترکیبات فعال زیستی و خواسته‌های مصرف‌کنندگان برای دریافت مواد غذایی ایمن و طبیعی، تولیدکنندگان مواد غذایی به استفاده از مواد ضد میکروبی طبیعی نیز تمایل بیشتری پیدا کرده‌اند. بیشتر ترکیبات فنلی استخراج شده از گیاهان، به دلیل دارا بودن خواص ضد میکروبی، یکی از این موارد محسوب می‌گردند (Kołodziejczyk et al., 2013).

طی پژوهشی لاکومبی و همکاران (2012) ثابت کردند که زغال‌اخته دارای ترکیباتی مانند فنل‌های مونومریک، پروآنتوسیانیدین و آنتوسیانیدین می‌باشد. همچنین اثر ضد میکروبی عصاره متانولی در غلظت‌های 2 تا 4 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر علیه برخی از باکتری‌های بیماری‌زا از جمله اش‌رشیاکلی را به دلیل حضور این ترکیبات عنوان کردند (Lacombe et al., 2012).

$$A = \varepsilon \times B \times C \quad (1)$$

A: مقدار جذب

ε: ضریب خاموشی معادل 33000 مول بر سانتی متر

B: عرض سل برابر یک سانتی متر

C: مقدار آنتوسیانین بر حسب مول بر گرم.

ارزیابی فعالیت ضداکسایشی

روش پراکسید هیدروژن (H₂O₂)

توانایی مهارکنندگی پراکسید هیدروژن با استفاده از روش Ruch و همکاران (1989) مشخص شد. ابتدا یک محلول از پراکسید هیدروژن 40 میلی مولار در بافر فسفات (50 میلی مولار و pH=7) تهیه شد. سپس غلظت پراکسید هیدروژن از طریق جذب محلول آماده شده با استفاده از اسپکتروفتومتر و در طول موج 230 نانومتر مشخص گردید. سپس 20 میکرولیتر از نمونه رقیق شده با آب به محلول پراکسید هیدروژن اضافه گردید و بعد از 10 دقیقه جذب آن در طول موج 230 نانومتر در مقابل محلول بافر فسفات بدون پراکسید هیدروژن (نمونه شاهد) خوانده شد. درصد مهارکنندگی پراکسید هیدروژن با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد مهارکنندگی هیدروژن پراکسید} = \frac{(A_i - A_1)}{A_1} \times 100 \quad (2)$$

A_i: جذب نمونه شاهد

A₁: جذب نمونه مورد آزمایش

روش مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH

در این آزمون مطابق روش Sharma و همکاران (2015)، 100 میکرولیتر از نمونه (20 برابر توسط آب مقطر رقیق شده است) به علاوه 3/9 میلی لیتر از محلول 6 × 10⁻⁵ مولار ۲،۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل متانولی مخلوط شد. لوله‌های آزمایش به مدت 30 دقیقه در دمای 25 درجه سلسیوس در جای تاریک نگهداری شدند. سپس جذب نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 520 نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس فعالیت ضداکسایشی بر مبنای درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد مهار} = \frac{(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{blank}}} \times 100 \quad (3)$$

رادیکال‌های DPPH

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری نمونه شاهد (فاقد آب آلبالو) و A_{sample} بیانگر جذب نوری نمونه مورد آزمایش می‌باشد (al., 2015).

اندازه‌گیری فنل کل (TPC)

میزان کل ترکیبات فنلی با روش فولین سیوکالتیو¹ اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میلی گرم اسیدگالیک در میلی لیتر آب آلبالو تلخه بیان شد. اساس این روش که از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنلی می‌باشد، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج 765 نانومتر نشان می‌دهد. در این روش به 250 میکرولیتر از آب آلبالو تلخه 20 برابر رقیق شده با آب، یک میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو که به نسبت 1 به 10 با آب مقطر رقیق شده بود، اضافه شد. بعد از پنج دقیقه، دو میلی لیتر سدیم کربنات 20 درصد به آن اضافه و کاملاً مخلوط شد. پس از 30 دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در 765 نانومتر خوانده شد. پس از رسم منحنی استاندارد اسید گالیک، با قرار دادن مقدار جذب نمونه در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فنل کل موجود آب آلبالو تلخه محاسبه شد. در نهایت، داده‌ها بر اساس معادل میلی گرم گالیک اسید بر میلی لیتر آب میوه بیان گردید (Sharma et al., 2015).

اندازه‌گیری فلاونوئید کل (TFC)

میزان فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید تعیین شد. در این روش یک میلی لیتر از نمونه رقیق شده، با چهار میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس به آن 0/3 میلی لیتر سدیم نیتريت 5 درصد و 0/3 میلی لیتر آلومینیوم کلراید 10 درصد به همراه 2 میلی لیتر سدیم هیدروکسید یک مولار اضافه شد. بعد از 5 دقیقه با 2/4 میلی لیتر آب مقطر کاملاً مخلوط شد و سپس جذب نمونه در 510 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان فلاونوئید کل با استفاده از معادله منحنی استاندارد و بر اساس میلی گرم روتین بر میلی لیتر آب آلبالو گزارش شد (Floegel et al., 2011).

اندازه‌گیری آنتوسیانین کل

محتوای آنتوسیانین کل به روش Khoo و همکاران (2011) انجام گرفت. مطابق این روش، ابتدا 0/1 گرم از آب آلبالو وزن شد و با 10 میلی لیتر متانول اسیدی (به نسبت یک میلی لیتر اسید کلریدریک یک نرمال و 99 میلی لیتر متانول خالص) کاملاً مخلوط گردید. نمونه آماده شده به مدت 24 ساعت در محل تاریک و در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس جذب نمونه به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 550 نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار آنتوسیانین کل طبق فرمول زیر بر حسب مول بر گرم محاسبه شد:

بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی

آماده‌سازی میکروارگانیزم‌ها

به‌منظور تهیه میکروارگانیزم‌های فعال، سوبه‌های استاندارد میکروبی اشریشیاکلی گرم منفی (PTCC 1338)، استافیلوکوکوس اورئوس گرم مثبت (PTCC 1112)، اسپرئیلوس فلاووس (5004 PTCC) و پنی سیلیوم کرایسوزنوم (PTCC 5037) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، بخش کلکسیون میکروبی به صورت لیوفیلیزه تهیه شد. آمپول حاوی میکروارگانیزم‌ها در شرایط کاملاً استریل شکسته و سپس به مقدار 0/5 میلی‌لیتر از محیط کشت نوترینت برات به داخل آمپول‌ها تزریق شد. سپس توسط پیپت پاستور از ترکیبات سوسپانسیون باکتری‌ها و کپک‌ها به محیط کشت‌های مایع و جامد که از قبل آماده شده بود تلقیح گردید و باکتری‌ها به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس و کپک‌ها به مدت 48 ساعت در دمای 25 درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند.

آزمون بررسی فعالیت ضد میکروبی به روش ایجاد چاهک

ابتدا میکروارگانیزم‌های مورد نظر، به نرمال سالین استریل منتقل شدند تا کدورت آن‌ها با استاندارد 0/5 مک فارلند معادل CFU/ml $10^8 \times 1/5$ میکروارگانیزم، برابر شد. سپس رقت‌های 10^4 و 10^2 میکروارگانیزم از محلول استاندارد تهیه شد تا این که خواص ضد میکروبی نمونه نسبت به میکروارگانیزم‌ها در رقت‌های مختلف سنجیده شود. توسط سوآپ استریل از میکروارگانیزم‌ها برداشته شد و روی محیط کشت، به صورت خطی توسط میله‌های شیشه‌ای L مانند در سطح پتری‌دیش کشت داده شد. توسط خلا و پیپت پاستور استریل، چاهک‌هایی به قطر 6 میلی‌متر روی محیط کشت ایجاد گردید. سپس انتهای چاهک‌ها با 10 میکرولیتر محیط کشت پر شد تا از نفوذ احتمالی آب آلبالو تلخه به کف محیط و از بروز هر گونه خطا پیشگیری شود. سپس 50 میکرولیتر از آب آلبالو تلخه (توسط صافی 0/2 میکرون صاف شد) در چاهک‌ها ریخته شد و در هر ظرف کشت یک چاهک به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس پلیت‌های کشت شده در حرارت 37 درجه سلسیوس به مدت 24 ساعت برای باکتری‌ها و 48 ساعت برای قارچ‌ها، گرمخانه‌گذاری شدند و قطر هاله‌های عدم رشد با استفاده از خط‌کش و از پشت پتری‌دیش‌ها اندازه‌گیری شد. جهت مقایسه قطر هاله‌ها، از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌های رایج اریتروماسین و آمیکاسین استفاده شد و قطر هاله عدم رشد آنتی‌بیوتیک‌ها در مورد هر میکروارگانیزم مشخص گردید. نمونه‌ای که قطر هاله عدم رشد در آن تشکیل گردید جهت

آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی² (MIC) و حداقل غلظت کشندگی³ (MBC) مورد بررسی قرار گرفت (Metrouh-Amir *et al.*, 2015).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی آب آلبالو تلخه به روش ماکرودایلوشن⁴ (رقیق‌سازی در لوله آزمایش) در محیط کشت استفاده شد. برای این منظور 4 عدد لوله آزمایش حاوی 4 میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت برات استریل در نظر گرفته شد. غلظت‌های مختلف از آب آلبالو تلخه در آب مقطر استریل به میزان 1، 0/9، 0/8 و 0/7 درصد حجمی-حجمی تهیه شد. سپس به هر کدام از لوله‌های آزمایش یک میلی‌لیتر نمونه با غلظت‌های آماده شده اضافه گردید. به تمامی لوله‌های آزمایش یک میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری مورد نظر به میزان 10^2 CFU/ml تلقیح گردید. یک لوله آزمایش حاوی محیط کشت به‌عنوان کنترل منفی، یک لوله آزمایش حاوی محیط کشت و باکتری جهت کنترل مثبت و یک لوله آزمایش نیز حاوی محیط کشت و آب آلبالو (شاهد سنجش کدورت) تهیه گردید. تمامی لوله‌های آزمایش به مدت 24 ساعت در گرمخانه 37 درجه سلسیوس قرار داده شده و پس از طی این مدت، لوله‌های آزمایش از نظر کدورت حاصل از فعالیت و رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برای لوله‌ای در نظر گرفته شد که حاوی کمترین غلظت آبمیوه باشد و کدورت حاصل از رشد میکروارگانیزم در آن ایجاد نشده باشد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری از لوله‌های آزمایشی که در آن‌ها کدورت دیده نشد روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد و به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. کمترین غلظتی که هیچ رشدی از باکتری در آن مشاهده نشده باشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته می‌شود (Soltani *et al.*, 2013).

نتایج و بحث

میزان فنل کل

میزان فنل کل آب آلبالو تلخه $303 \pm 0/06$ میلی‌گرم گالیک اسید در 100 میلی‌لیتر آب میوه تعیین شد که در مقایسه با سایر میوه‌های رنگی مشابه، در سطح پایین‌تری قرار گرفته است (جدول 1). تحقیقات مختلفی در زمینه بررسی و تعیین ویژگی‌های ترکیبات موثره

1 Minimum Concentration Inhibitory
2 Minimum Bactericidal Concentration
3 Macrobroth dilution

اختلاف در گونه و شرایط آب و هوایی منطقه کشت این میوه نیز باشد. در پژوهشی مشابه ابروسکا و همکاران (2008) میزان ترکیبات فلاونوئیدی در پوست و گوشت سیب را به ترتیب 47/8 و 16/0 میلی‌گرم در 100 گرم گزارش کردند. بنابراین پوست میوه در مقایسه با سایر قسمت‌های میوه غنی‌ترین منبع ترکیبات فلاونوئیدی است (D'Abrosca et al., 2007). در مقایسه‌ای بین میزان فلاونوئید کل آب آلبالو تلخه نسبت به سایر نوشیدنی‌ها از جمله آب میوه رایج انگور قرمز مشاهده می‌شود که میزان فلاونوئید آب انگور قرمز به میزان 9/8 میلی‌گرم بر 100 میلی‌لیتر در سطح پایین‌تری نسبت به آب آلبالو تلخه قرار دارد (Montoro et al., 2015). مطابق با نتایج این پژوهش و نتایج سایر محققین مشخص شد علاوه بر پوست و گوشت میوه آلبالو تلخه، آب میوه منبع غنی از ترکیبات فلاونوئیدی است.

میزان آنتوسیانین کل

مطابق با جدول 1 میزان آنتوسیانین کل آب آلبالو تلخه $871/63 \pm 0/93$ میلی‌گرم سیانیدین در 100 میلی‌لیتر آب میوه تعیین شد که در مقایسه با سایر میوه‌های رنگی حاوی آنتوسیانین گزارش شده توسط سایر محققین، در سطح بسیار بالایی قرار دارد. در پژوهشی Kim و همکاران (2005) میزان آنتوسیانین کل در ارقام مختلف میوه آلبالو تازه را 45 تا 109 میلی‌گرم سیانیدین 3 گلیکوزید در 100 گرم نمونه گزارش کردند و علت تفاوت در میزان آنتوسیانین را نوع رقم عنوان کردند. Khoo و همکاران (2011) محتوای آنتوسیانین کل آلبالو را در محدوده 21-285 میلی‌گرم مالویدین در 100 گرم نمونه گزارش کردند و بر این باورند که منطقه کشت و زمان برداشت محصول بر میزان آنتوسیانین میوه‌ها موثر است. همچنین بیان کردند رقم‌های تیره رنگ آلبالو در سطح بالاتری از فنل و آنتوسیانین کل قرار دارند. همچنین شرایط نگهداری آبمیوه‌ها و میوه‌ها در طول انبارداری برای حفظ ترکیبات آنتوسیانین بسیار مهم است، زیرا آنتوسیانین به دما و نور بسیار حساس می‌باشد و واکنش‌های اکسیداتیو، در نتیجه عمل آنزیم و حضور دیگر ترکیبات فنلی منجر به تخریب آنتوسیانین‌ها می‌شود. در نتیجه شرایط بهینه دما و زمان نگهداری محصول باید در نظر گرفته شود (Reque et al., 2014). نتیجه پژوهش حاضر حاکی از آن است که میزان آنتوسیانین در آب آلبالو تلخه در مقایسه با سایر ارقام آلبالو و میوه‌های رنگی، به دلیل رنگ قرمز تیره‌تر تقریباً 15 برابر بیشتر است که رقم قابل توجهی می‌باشد و نشان‌دهنده ارزش تغذیه‌ای و سلامت‌بخش بالای این میوه است.

میوه‌های رنگی مشابه با آلبالو تلخه انجام گرفته است. در پژوهشی Khoo و همکاران (2011) میزان فنل کل 34 رقم مختلف آلبالو را بین 74-754 میلی‌گرم اسیدگالیک در 100 گرم نمونه گزارش کردند. با توجه به نتایج تحقیق حاضر میزان فنل کل آب آلبالو تلخه نیز در این دامنه قرار دارد و حتی نسبت به بعضی از رقم‌های آلبالو در سطح بالاتری قرار می‌گیرد (Khoo et al., 2011). تفاوت‌های زیادی بین میزان فنل کل میوه‌ها و سبزی‌های مختلف و یا حتی بین میوه‌ها و سبزی‌های مشابه گزارش شده است. این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل ویژگی‌های ژنتیکی از جمله جنس، گونه و رقم، عوامل محیطی نظیر شرایط کشت، حمل و نقل و نگهداری و شرایط و روش‌های مختلف استخراج باشد. (D'Abrosca et al., 2007; Fang et al., 2008; Sun et al., 2002).

میزان فلاونوئید کل

همانطور که در جدول 1 آمده است، میزان فلاونوئید کل آب آلبالو تلخه $17 \pm 0/01$ میلی‌گرم روتین در 100 میلی‌لیتر آب میوه تعیین گردید که این مقدار در مقایسه با نتایج سایر محققین در زمینه اندازه‌گیری میزان فلاونوئید میوه‌های رنگی از جمله تمشک قرمز در سطح بالاتر و نسبت به دیگر میوه‌های رنگی در سطح پایین‌تری قرار دارد (Samec and Zegarac., 2011; Chen et al., 2013; Pantelidis et al., 2007; You et al., 2011; Serradilla et al., 2012). همانند میزان فنل کل عوامل متعددی بر میزان ترکیبات فلاونوئیدی میوه‌ها موثر است که از آن جمله می‌توان به رقم و منطقه رشد گیاه اشاره کرد. با این حال این عوامل به تنهایی اطلاعات کافی از تغییر سطح فلاونوئیدها در طی سال‌های مختلف و تحت تغییرات سالانه آب و هوا را نشان نمی‌دهد. بنابراین فصل رشد، شرایط حاکم زیست محیطی و زمان برداشت محصول نیز می‌تواند بر میزان ترکیبات فلاونوئیدی موثر باشد (Wang et al., 2009). همچنین شرایط نگهداری محصول از زمان برداشت تا انجام آزمایش، فاکتور بسیار مهمی در این زمینه محسوب می‌شود. نتایج پژوهش دوشی و ادسول (2008) نشان می‌دهد که در طی نگهداری، میزان ترکیبات فلاونوئیدی افزایش می‌یابد. این امر به دلیل آزاد شدن ترکیبات فلاونوئیدی از طریق اتصال پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها به ترکیبات فلاونوئیدی و خروج آنها از شکل کمپلکس موجود در بافت میوه گزارش شده است (Doshi and Adsule, 2008).

از طرفی میزان ترکیبات فلاونوئیدی در قسمت پوست، گوشت و آب میوه متفاوت است. به طوری که در پژوهشی آیری و همکاران (2012) میزان فلاونوئید کل در پوست و گوشت آلبالو تلخه کشور ایتالیا را به میزان 55 میلی‌گرم در 100 گرم گزارش کردند که نسبت به آب میوه آلبالو تلخه مورد بررسی در این پژوهش، در سطح بالاتری قرار دارد (Ieri et al., 2012). البته این تفاوت می‌تواند به دلیل

میزان ویتامین ث

بر ژن گیاه تاثیر گذاشته و تولید ویتامین ث را تغییر می‌دهند (Souza et al., 2014). Ramful و همکاران (2011) میزان ویتامین ث میوه‌ها در سه سطح پایین (کمتر از 30 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر)، متوسط (بین 30-50 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر) و بالا (بیش از 50 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر) تقسیم‌بندی کردند. با توجه به این طبقه‌بندی، میزان ویتامین ث آلبالو تلخه در سطح متوسط قرار دارد.

میزان ویتامین ث در آلبالو تلخه 39/26 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد (جدول 1). سایر محققین میزان ویتامین ث میوه‌های رنگی را در دامنه 52/41 تا 92/17 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر به ترتیب در توت سیاه و تمشک قرمز گزارش کرده‌اند. تفاوت در مقدار ویتامین ث در میوه‌های مختلف به عوامل متعددی بستگی دارد. عوامل محیطی مانند اکسیژن و حرارت موجب تخریب ویتامین ث می‌شوند. عوامل ژنتیکی و عوامل زیست محیطی، به طور مستقیم

جدول 1- میزان ترکیبات فعال زیستی آب آلبالو تلخه در مقایسه با سایر میوه‌های رنگی

منابع	ویتامین ث (میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر آب میوه)	آنتوسیانین کل (میلی‌گرم سیانیدین در 100 میلی‌لیتر آب میوه)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم روتین در 100 میلی‌لیتر آب میوه)	فنل کل (میلی‌گرم اسیدگالیک در 100 میلی‌لیتر آب میوه)	پارامترها نمونه
	39/26±0/01	871/63±0/93	17/00±0/01	303/00±0/06	آب آلبالو تلخه
Samec and Zegarac (2011)	52/41±11/31	58/61±2/19	87/03±4/85	850/52±4/77	توت سیاه
Chen et al (2013)	92/17±10/11	14/69±2/03	9/61±2/15	357/83±7/06	تمشک قرمز
Pantelidis et al. (2007)	90/13±2/24	16/03±0/50	38/17±2/76	621/92±15/51	توت فرنگی
You et al. (2011)	73/21±0/35	29/72±4/20	47/53±2/40	305/38±5/09	زغال اخته
Serradilla et al. (2012)	62/42±7/69	26/72±3/22	59/92±3/76	314/45±5/95	گیلاس

قدرت مهارکنندگی آب میوه افزایش می‌یابد (Laroze et al., 2010). علاوه بر ساختار ترکیبات فنلی، میزان و نوع ترکیبات فنلی در میوه‌های رنگی مختلف، بر فعالیت ضداکسایشی موثر است. در تحقیقی سوکولی تووسکا و همکاران (2014) به مقایسه میزان ترکیبات فنل کل و آنتوسیانین کل و همچنین فعالیت ضداکسایشی نوشیدنی‌های تولید شده از 10 نوع میوه قرمز رنگ از جمله زغال اخته، انگور سیاه، توت سیاه، تمشک، آلوچه، توت فرنگی، آلبالو و غیره پرداختند. نتایج نشان داد که این میوه‌ها منبع مناسبی از ترکیبات فنلی بوده و فعالیت ضداکسایشی بالایی دارند. بنابراین استفاده از آنها جهت تولید نوشیدنی سنتی می‌تواند بسیار ارزشمند باشد (Sokol-Letowska et al. 2014). همچنین پژوهشی در جهت تاثیر نوع ترکیبات فنلی و میزان آنتوسیانین بر فعالیت ضداکسایشی یازده نوع آب آلبالو به دست آمده از واریته‌های مختلف، توسط دامار و ایکسای در سال 2012 انجام گرفت. نتایج نشان داد که آب آلبالو واریته ترکیه بیشترین میزان آنتوسیانین (5/633-350 میلی‌گرم بر لیتر) را داراست. همچنین بیان کردند آب آلبالو ماده ضداکسایش قوی می‌باشد که این امر عمدتاً به دلیل حضور ترکیبات پلی‌فنلی از جمله ملاتونین⁵ موجود در آن است. اما ترکیبات آنتوسیانین مانند سیانیدین-3-روتینوزید هم تا حدودی بر فعالیت ضداکسایشی موثر هستند (Damar and

فعالیت ضداکسایشی

میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و H₂O₂ توسط آب آلبالو تلخه به ترتیب 72/3± 0/81 درصد و 6/33± 0/68 درصد تعیین شد. بررسی‌ها نشان داده است که ترکیبات فعال زیستی از جمله ویتامین ث و ترکیبات فنلی که به طور گسترده در بسیاری از گیاهان یافت می‌شوند، توانایی بالایی در مهار رادیکال‌های آزاد دارند. ویتامین ث یا اسید آسکوربیک از مهم‌ترین ترکیبات ضداکسایشی میوه‌ها به خصوص در مرکبات شناخته شده است. اسید آسکوربیک از طریق واکنش با اکسیژن و تولید دهیدروآسکوربیک اسید قادر به ایجاد سیستم اکسایش-کاهش جهت تخریب رادیکال‌های آزاد است. طبق پژوهش سوزا و همکاران (2014) رابطه مستقیمی بین ویتامین ث و فعالیت ضداکسایشی در میوه‌های گیلاس، زغال اخته، توت فرنگی و دیگر میوه‌های رنگی وجود دارد (de Souza et al., 2014).

فعالیت ضداکسایشی ترکیبات فنلی بستگی به ساختار، به‌ویژه تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل در حلقه‌های آروماتیک دارد. طی پژوهشی لاروز و همکاران (2010) فعالیت ضداکسایشی تفاله زغال اخته، قره قاط و تمشک را بررسی کردند. نتایج حاکی از آن است انواع توت‌ها به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی بالا توانایی بیشتری در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH دارند. دلیل این امر را افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش عنوان کردند که در نتیجه آن احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و

می‌تواند قابل توجه باشد (Dehghan *et al.*, 2014). در تحقیقی که توسط کولودزی ایچکزیک و همکاران (2013) روی فعالیت ضدکسایشی و فعالیت ضد میکروبی و ترکیبات پلی فنلی عصاره تفاله آلبالو انجام گرفت، مشخص شد که محتویات پلی فنلی شامل آنتوسیانین‌ها و هیدروکسی سینامیک اسید و فلاونوئیدها است که فعالیت ضدکسایشی بالایی را دارند. به علاوه بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آلبالو بر باکتری‌های سالمونلا، اشریشیا کلی و لیستریا نشان داد که این عصاره می‌تواند موجب کاهش رشد سالمونلا و اشریشیا کلی و مهار رشد لیستریا شود (Kolodziejczyk *et al.*, 2013). علاوه بر ویژگی‌های ذکر شده، نتایج بررسی فعالیت ضد میکروبی گیاهان مختلف توسط محققان نشان داده است که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری دارند (Weerakkody *et al.*, 2010). باکتری‌های گرم منفی علاوه بر لایه پپتیدوگلیکان، دارای یک غشای خارجی در دیواره سلولی خود می‌باشند. سطح هیدروفیلی این غشا غنی از مولکول‌های لیپولی ساکاریدی می‌باشد و به‌عنوان مانعی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کند. اما در برابر باکتری‌های گرم مثبت، مواد ضد میکروبی به راحتی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب کرده و منجر به نشت سیتوپلاسم و انعقاد آن می‌شوند (Sandri *et al.*, 2007). با توجه به موارد گفته شده علت بیشتر بودن قطر هاله عدم رشد باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به باکتری گرم منفی اشریشیا کلی توجیه می‌شود. مشاهده می‌شود نتایج تحقیق حاضر تا حدودی با نتایج ارائه شده در برخی از مطالعات قبلی بر میوه‌های رنگی مطابقت دارد.

Eksi., 2012. طبق پژوهش آیری و همکاران (2012) ترکیب سیانیدین-3-روتینوزید در میوه آلبالو تلخه هم شناسایی شده است که مطابق با نتایج پژوهش قبلی می‌تواند فعالیت ضدکسایشی آلبالو تلخه را تحت تاثیر قرار دهد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این بررسی و مقایسه آن با سایر پژوهش‌های انجام شده می‌توان آب آلبالو تلخه را به عنوان منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی و همچنین به‌عنوان یک ضدکسایش طبیعی و قوی معرفی کرد.

ارزیابی خواص ضد میکروبی بررسی قطر هاله عدم رشد

مطابق جدول (2) قطر هاله عدم رشد باکتری‌های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت یک درصد از عصاره به ترتیب $23/12 \pm 0/1$ و $25/20 \pm 0/1$ میلی‌متر مشخص شد که نسبت به آنتی‌بیوتیک اریترومایسین در سطح بالاتری قرار داشت. دلیل این امر می‌تواند تاثیر ترکیبات فنلی، ساپونین، تانن و فلاونوئیدهای موجود، بر غشای پلاسمایی و سلولی میکروارگانیسم‌ها و یا مهار آنزیم‌های ساختاری غشای سلولی آنها باشد (Soltani *et al.*, 2013). همچنین در مطالعه‌ای پرومالا و هتیاراچی (2011) خواص ضد میکروبی ترکیبات فنلی را واکنش گروه سولفیدریل پروتئین‌ها و غیرفعال کردن کارایی ترکیبات موجود در میکروارگانیسم‌ها گزارش کردند (Perumalla & Hettiarachchy., 2011). این در حالی است که این هاله در قارچ‌های اسپرژیلوس فلاووس و پنی‌سیلیوم کرایسوژنوم اصلا مشاهده نشد. با توجه به مقاومت بالای کونیدی‌های اسپرژیلوس‌ها و پنی‌سیلیوم‌ها نسبت به ترکیبات ضدقارچی این امر

جدول 2- قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌ها بر حسب میلی‌متر در برابر غلظت‌های مختلف آب آلبالو و اریترومایسین

میکروارگانیسم (10^4 CFU/ml)	آب آلبالو (1 درصد)	اریترومایسین
	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	
اشریشیا کلی	$23/12 \pm 0/1$	$7/30 \pm 0/1$
استافیلوکوکوس اورئوس	$25/20 \pm 0/1$	$23/14 \pm 0/1$
اسپرژیلوس فلاووس	-	-
پنی‌سیلیوم کرایسوژنوم	-	-

نشد. MIC و MBC برای قارچ‌ها به علت عدم تشکیل هاله رشد بررسی نشده است. نتایج پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد اثر ضد میکروبی عصاره‌ها به‌طور عمده به میزان ترکیبات فنلی بستگی دارد، درحالی که ساختار دیواره سلولی و یا مکانیسم تولید هاگ میکروارگانیسم‌ها بر نتایج MIC تاثیر نمی‌گذارد (Demirdoven *et al.*, 2015; Negi *et al.*, 2003).

MBC و MIC

نتایج MIC یا کمترین غلظت مهارکنندگی و MBC یا کمترین غلظت کشندگی آب آلبالو تلخه در جدول (3) نشان داده شده است. مطابق با نتایج به‌دست آمده، MIC آب آلبالو تلخه علیه باکتری اشریشیا کلی معادل 0/9 درصد و علیه استافیلوکوکوس اورئوس معادل 0/8 درصد بود، اما اثر کشندگی برای هیچ‌کدام از باکتری‌ها مشاهده

جدول 2- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی آب آلبالو تلخه بر میکروارگانیزم‌های مورد بررسی

حداقل غلظت کشندگی (درصد حجمی - حجمی)	حداقل غلظت مهارکنندگی (درصد حجمی - حجمی)	باکتری (10^2 CFU/ml)
-	0/9	اشریشیاکلی
-	0/8	استافیلوکوکوس اورئوس

مشخص شد که آب آلبالو تلخه اثرات ضدباکتریایی روی باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس دارد. از این رو می‌توان از آلبالو تلخه در صنعت غذا به‌جای ضداکسایش‌های صنعتی و سایر نگهدارنده‌های شیمیایی و میکروبی استفاده نمود. این در حالی است که در بیشتر موارد طعم تلخ این میوه می‌تواند عاملی منفی در جهت استفاده مستقیم از آن باشد. بنابراین توصیه می‌شود که قبل از استفاده از این میوه مفید در صنعت، فرآیند تلخی‌زدایی روی آن انجام گیرد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، مشخص شد که آب آلبالو تلخه از فعالیت ضداکسایشی و ضد میکروبی بالایی برخوردار است که این امر ناشی از غنی بودن آب میوه از ترکیبات فنلی (303 میلی‌گرم اسید گالیک در 100 میلی‌لیتر آب میوه)، فلاونوئیدی (0/17 میلی‌گرم روتین در میلی‌لیتر آب میوه)، آنتوسیانین (871/63 میلی‌گرم سیانیدین در 100 میلی‌لیتر آب میوه) و ویتامین ث ($39/26 \pm 0/01$) است. همچنین

منابع

- قارونی، ت.، زمانی، ذ.، بوذری، ن. 1391. تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های محلب (*Prunus mahaleb* L.) بر اساس صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای RAPD. مجله به نژادی نهال و بذر، 1-28: 717-739.
- Babbar, N., Oberoi, H. S., Uppal, D. S., & Patil, R. T. (2011). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International*, 44(1), 391-396.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- Chen, L., Xin, X., Zhang, H., & Yuan, Q. (2013). Phytochemical properties and antioxidant capacities of commercial raspberry varieties. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 508-515.
- Chitsaz, M. (2006). In vitro Evaluation of Antibacterial Effect of *Stachys schtschegleevii*. *Daneshvar Medical Journal*, 14, 1-8.
- D'Ambrosca, B., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone, C., & Fiorentino, A. (2007). 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 104(4), 1333-1337.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- Damar, İ., & Ekşi, A. (2012). Antioxidant capacity and anthocyanin profile of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) juice. *Food Chemistry*, 135(4), 2910-2914.
- de Souza, V. R., Pereira, P. A. P., da Silva, T. L. T., de Oliveira Lima, L. C., Pio, R., & Queiroz, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, 156, 362-368.
- Dehghan, G., Zarrini, G., & Hajizadeh, M. (2013). Phytochemical investigation and antimicrobial, antifungal and synergistic activities of chloroform fractions of the root of *Ferula szovitsiana*. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 15(6), 10-17.
- Demirdöven, A., Karabıyıklı, Ş., Tokatlı, K., & Öncül, N. (2015). Inhibitory effects of red cabbage and sour cherry pomace anthocyanin extracts on food borne pathogens and their antioxidant properties. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 8-13.
- Doshi, P. J., & Adsule, P. G. (2006, February). Effect of storage on physicochemical parameters, phenolic compounds and antioxidant activity in grapes. In *International Symposium on Grape Production and Processing* 785 (pp. 447-456).
- Fang, F., Li, J. M., Zhang, P., Tang, K., Wang, W., Pan, Q. H., & Huang, W. D. (2008). Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines. *Food Research International*, 41(1), 53-60.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, 24(7), 1043-1048.
- Ieri, F., Pinelli, P., & Romani, A. (2012). Simultaneous determination of anthocyanins, coumarins and phenolic acids in

- fruits, kernels and liqueur of *Prunus mahaleb* L. *Food chemistry*, 135(4), 2157-2162.
- Khoo, G. M., Clausen, M. R., Pedersen, B. H., & Larsen, E. (2011). Bioactivity and total phenolic content of 34 sour cherry cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 772-776.
- Kołodziejczyk, K., Sójka, M., Abadias, M., Viñas, I., Guyot, S., & Baron, A. (2013). Polyphenol composition, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of the extracts obtained from industrial sour cherry pomace. *Industrial Crops and Products*, 51, 279-288.
- Lacombe, A., Wu, V. C., White, J., Tadepalli, S., & Andre, E. E. (2012). The antimicrobial properties of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) fractional components against foodborne pathogens and the conservation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus*. *Food microbiology*, 30(1), 124-131.
- Laroze, L. E., Diaz-Reinoso, B., Moure, A., Zúñiga, M. E., & Domínguez, H. (2010). Extraction of antioxidants from several berries pressing wastes using conventional and supercritical solvents. *European Food Research and Technology*, 231(5), 669-677.
- Mariod, A. A., Ibrahim, R. M., Ismail, M., & Ismail, N. (2010). Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. *Food Chemistry*, 118(1), 120-127.
- Metrouh-Amir, H., Duarte, C., & Maiza, F. (2015). Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. *Industrial Crops and Products*, 67, 249-256.
- Moreno-Montoro, M., Olalla-Herrera, M., Gimenez-Martinez, R., Navarro-Alarcon, M., & Rufián-Negi, P. S., Jayaprakasha, G. K., & Jena, B. S. (2003). Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food chemistry*, 80(3), 393-397.
- Pantelidis, G. E., Vasilakakis, M., Manganaris, G. A., & Diamantidis, G. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, 102(3), 777-783.
- Pertuzatti, P. B., Barcia, M. T., Rodrigues, D., da Cruz, P. N., Hermosín-Gutiérrez, I., Smith, R., & Godoy, H. T. (2014). Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian blueberries. *Food chemistry*, 164, 81-88.
- Perumalla, A. V. S., & Hettiarachchy, N. S. (2011). Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality. *Food Research International*, 44(4), 827-839.
- Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O. I., Bourdon, E., & Bahorun, T. (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*, 44(7), 2088-2099.
- Reque, P. M., Steffens, R. S., Jablonski, A., Flôres, S. H., Rios, A. D. O., & de Jong, E. V. (2014). Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 111-116.
- Ruch, R. J., Cheng, S.J., & Klainig J.E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogen* 10, 1003-1008.
- Samec, D., & Piljac-Zegarac, J. (2011). Postharvest stability of antioxidant compounds in hawthorn and cornelian cherries at room and refrigerator temperatures Comparison with blackberries, white and red grapes. *Scientia horticultrae*, 131, 15-21.
- Sandri, I. G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A. P. L., & Echeverrigaray, S. (2007). Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Food chemistry*, 103(3), 823-828.
- Serradilla, M. J., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., López-Corrales, M., & de Guía Cordoba, M. (2012). Physicochemical and sensorial characterisation of four sweet cherry cultivars grown in Jerte Valley (Spain). *Food Chemistry*, 133(4), 1551-1559.
- Sharma, S., Kori, S., & Parmar, A. (2015). Surfactant mediated extraction of total phenolic contents (TPC) and antioxidants from fruits juices. *Food chemistry*, 185, 284-288.
- Sokol-Letowska, A., Kucharska, A. Z., Wińska, K., Szumny, A., Nawirska-Olszańska, A., Mizgier, P., & Wyspiańska, D. (2014). Composition and antioxidant activity of red fruit liqueurs. *Food chemistry*, 157, 533-539.
- Soltani, M., Ghodratanama, M., Taheri Mirghaed, A., Zargar, A., & Rooholahi, Sh. (2013). The effect of *Zataria multiflora* Boiss and *Rosmarinus officinalis* essential oil on *Streptococcus iniae* isolated from Rainbow trout farms. *Journal of Veterinary Microbiology*, 9(1), 1-11.
- Sun, J., Chu, Y. F., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), 7449-7454.
- Uggla, M., Goa, X., and Werlemark, G. 2003. Variation among and within dog rose taxa (*Rosa sect. canina*) in fruit weight, percentage of fruit flesh and dry matter, and vitamin C content. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B. Soil and Plant Science*, 53, 147-155.
- Wang, S. Y., Chen, C. T., & Wang, C. Y. (2009). The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberries. *Food Chemistry*, 112(3), 676-684.
- Weerakkody, N. S., Caffin, N., Turner, M. S., & Dykes, G. A. (2010). In vitro antimicrobial activity of less-utilized

- spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control*, 21(10), 1408-1414.
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(12), 4026-4037.
- You, Q., Wang, B., Chen, F., Huang, Z., Wang, X., & Luo, P. G. (2011). Comparison of anthocyanins and phenolics in organically and conventionally grown blueberries in selected cultivars. *Food Chemistry*, 125(1), 201-208.

Evaluation of Bioactive Compounds of *White mahaleb* Juice

F. Bazrafkan¹, S. Zaringhalami^{*2}, A. Ganjloo²

Received: 2016.06.15

Accepted: 2017.04.22

Introduction: In recent years special attention has been paid to the use of natural sources contain healthy bioactive compounds. Fruit and vegetable juices are a good source of many biologically active compounds, particularly vitamins, minerals and phenols. Phenolic compounds are secondary metabolites widely found in fruits, mostly represented by flavonoids and phenolic acids. Phenols are known for their antioxidant, anticancer and cardio-protective properties among bioactive compounds. The health benefits of these phytochemicals are directly linked to a regular intake and their bioavailability. Berries with dark blue or red colors have the highest bioactive compounds and antioxidant capacities among all common fruits and vegetables. Anthocyanins which are one of the largest and most important group of water-soluble pigments in most species in the plant kingdom are largely responsible for diverse pigmentation from orange to red, purple and blue fruits, such as: blackberry, red and black raspberries, blueberries, bilberries. White mahlab (*Prunus mahaleb* L.) fruits with a dark red color, which known also as English cherry, Rock cherry, St. Lucie cherry, of the *Rosaceae* family, subfamily Prunoidae, is a deciduous tree with 1–2 m high. Mahaleb cherry tree which grows abundantly in West Asia such as in Iran used just as basic link for cherry trees because of bitter taste of their fruits. In order to reduce the bitterness and improve the taste of mahaleb juice, a debittering process is considered as an effective solution to overcome the commercial application problem. Several debittering techniques have been used to reduce the content of bitter compounds, such as biodegradation by enzymes, addition of bitterness suppressing agents, ultrafiltration.

Material and Methods: All chemicals used were analytical grade and purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Selected microorganisms including *Staphylococcus aureus* (PTCC: 1112), *Escherichia coli* (PTCC: 1338), *Aspergillus flavus* (PTCC: 5004) and *Penicillium chrysogenum* (PTCC: 5037) were obtained from the Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Iran.

The ripened fruits of mahaleb were collected from the orchard of Zanjan University, and transported to the laboratory. Harvest involved a random sampling from 5 trees. Stem and leaves were then discarded, and fruits stored at -18 °C until further use.

Frozen fruits were removed from the freezer, thawed and pitted. The fruit juice was obtained using a domestic juicer (Moulinex PC302, France). The juice was filtered through a stainless steel sieve (1 mm) to separate pomace from juice. The juice obtained was placed in dark glass bottles until further analysis.

Vitamin C content was determined using spectrophotometric method. Total phenolic content of the fruit juice was determined using Folin–Ciocalteu's assay. Total flavonoid and anthocyanin contents of the fruit juice were determined according to the colorimetric assay at 510 and 526 nm, respectively. Antioxidant activity was determined using Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging and reducing power of H₂O₂ methods.

Antimicrobial activity of mahaleb juice against *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium chrysogenum* was evaluated using agar well diffusion, and minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration was determined using broth microdilution and surface methods.

Results and Discussion: According to the result obtained, vitamin C, total phenolic, total flavonoid, total anthocyanin content was 39.26±0.01 mg/100 mL, 303.00±0.06 mg GAE/100 mL, 17.00±0.01 mg Rutin/mL and 871.63±0.93 mg Cyanidin/100 mL, respectively. Free radical scavenging activity and reducing power of H₂O₂ was 72.30% and 6.33%, respectively. Based on these results the white mahaleb juice had bioactive compounds such as other fruits with blue and purple color. According to other researchers there was a higher positive correlation between the amounts of carotenoids, total phenolics and anthocyanins and the antioxidant activity. Of course, it should be noted that several factors such as the plant growth region and the harvest period might have

1 and 2. Former MS.c and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Zanjan University, Zanjan, Iran.

(*- Corresponding Author Email: zaringhalami@znu.ac.ir)

an impact on plant growth and metabolite concentration. Some studies also showed that dark red sour cherries contain higher total phenolic and total anthocyanin content compared to sour cherries with lighter red color. Therefore, mahaleb juice which was used in the current research with dark blue color and high total phenolic and anthocyanin content have high antioxidant activity.

The results also revealed that mahaleb juice had no inhibitory effect on *Aspergillus flavus* and *Penicillium chrysogenum* whereas the minimum inhibitory concentration on 10^2 CFU/ml of *E. coli* and *Staphylococcus aureus* was obtained at 0.9 and 0.8 % concentration of mahaleb juice. In addition, no minimum bactericidal concentration was observed. So, mahaleb juice likely has no or little antifungal activity compared to antibacterial effects. Previous studies also showed that antimicrobial activity of many extracts related to their phenolic compounds and anthocyanins. Blueberry methanol extract was shown strongly inhibit the pathogenic bacteria, such as *E. coli* O157:H7. The antimicrobial properties of blueberry more likely is due to the compounds of monomeric phenolics, anthocyanins and proanthocyanidins. Therefore, mahaleb juice as a source of natural bioactive compounds such as vitamin C, phenols, carotenoids and anthocyanins is recommended as functional food in industry, especially, after debittering.

Keywords: *White mahaleb* Juice, Bioactive Compounds, Antioxidant capacity, Antimicrobial activity

به کارگیری لاکتوباسیلوس روتری در تهیه نان پروبیوتیک بخش 2: ارزیابی فرآیند ریزپوشانی دولایه لاکتوباسیلوس روتری به روش بسترشناور بر مقاومت حرارتی

لیلا زاغری¹ - علیرضا بصیری^{2*} - سمیه رحیمی² - علی زنوزی³

تاریخ دریافت: 1395/03/29

تاریخ پذیرش: 1396/02/11

چکیده

در این تحقیق از کیتوزان، کلریدکلسیم و صمغ عربی به ترتیب در غلظت‌های (0/5 و 1/5 درصد)، (5 درصد) و (1/5 و 3 و 6 درصد) (وزنی/حجمی) برای ریزپوشانی لایه دوم گرانول‌های حاوی لاکتوباسیلوس روتری، استفاده شد. زنده‌مانی نسبی باکتری‌های ریزپوشانی شده با کیتوزان و صمغ عربی در غلظت‌های به ترتیب 1 و 6 درصد (وزنی/حجمی) پس از آزمون حرارتی (دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه)، به ترتیب (7/31 و 3/7 درصد) و پس از آزمون حرارتی (دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه)، به ترتیب (0/63 و 0/31 درصد) بود که افزایش معنی‌داری نسبت به دیگر نمونه‌ها و شاهد نشان داد. تاثیر زمان پوشش‌دهی (45 و 90 دقیقه) بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%) پس از آزمون حرارتی، نشان داد که نمونه‌های پوشش‌دهی شده با محلول کلریدکلسیم با غلظت 5% (وزنی/حجمی) به مدت 90 دقیقه، پس از آزمون حرارتی (دمای 80 درجه سانتی‌گراد و زمان 15 دقیقه)، 9% بود که به طور معنی‌داری، دارای زنده‌مانی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها می‌باشند. با افزایش زمان پوشش‌دهی، قطر میکروکپسول‌ها افزایش و میزان انتقال حرارت به قسمت مرکز هسته کاهش یافته و زنده‌مانی باکتری افزایش می‌یابد. میزان زنده‌مانی باکتری در نمونه ریزپوشانی شده با کلریدکلسیم 5 درصد (وزنی/حجمی)، 1 و 24 ساعت پس از پخت در نان به ترتیب (0/56 و 0/52 درصد) بود که نسبت به نمونه ریزپوشانی شده با کیتوزان 1 درصد به طور معنی‌داری به ترتیب (0/47 و 0/44) افزایش نشان داد. تعداد باکتری‌های زنده در هر دو پوشش 1 و 24 ساعت پس از پخت، بیش از 10^6 (CFU/g) بود.

واژه‌های کلیدی: لاکتوباسیلوس روتری، ریزپوشانی دولایه، پوشش‌دهنده بسترشناور، مقاومت حرارتی، نان پروبیوتیک

مقدمه

مهمی در ارتقای سلامت جامعه داشته باشد. باکتری‌های پروبیوتیک برای ایجاد اثرات سلامت‌بخش خود، باید به صورت زنده و فعال به تعداد کافی به روده انتقال یابند. افزایش مقاومت در برابر حرارت‌های اعمال شده در هنگام تولید نان، استرس‌های ناشی از فشار اسمزی و مکانیکی در طول دوره نگهداری و همچنین اثرات شرایط اسیدی معده، از چالش‌های اصلی در تولید نان پروبیوتیک به‌شمار می‌آیند (Cook et al., 2011; Rosell, 2007). فناوری ریزپوشانی به‌منظور افزایش مقاومت باکتری‌ها در برابر شرایط نامساعد محیطی، کنترل انتشار و حفظ ساختار باکتری‌ها در حین عبور از معده و قبل از انحلال در روده استفاده می‌شود (Burgain et al., 2011). به‌کارگیری دماهای بیش از 45 درجه سانتی‌گراد در هنگام پخت نان، باعث تخریب باکتری‌های پروبیوتیک آزاد می‌گردد. از این رو بسیاری از تولیدکنندگان نان ترجیح می‌دهند، باکتری‌های پروبیوتیک را پس از فرآیند حرارتی به محصول اضافه کنند که منجر به نگرانی‌هایی در ارتباط با بحث ایمنی مواد غذایی می‌گردد. تحقیقاتی در خصوص افزودن پروبیوتیک‌ها بر روی سطح نان صورت گرفته است. در بخش

نان در بسیاری از جوامع جهانی به دلیل ارزش غذایی و قیمت مناسب، نقش مهمی را در رژیم غذایی، برعهده دارد. افزایش سطح آگاهی مصرف‌کننده‌ها نسبت به نقش فرآورده‌های پروبیوتیک در ارتقا سلامت، منجر به گسترش روند بکارگیری باکتری‌های پروبیوتیک در طیف وسیعی از مواد غذایی شده است. با توجه به گستردگی مصرف نان، امکان افزودن باکتری‌های پروبیوتیک به آن، می‌تواند نقش

1- دانش‌آموخته، کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران.

2- استادیار، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران.

3- استادیار، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران.

4- استادیار، گروه مهندسی زراعی، پژوهشکده کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران.

(Email: bassiri@irost.ir)

* - نویسنده مسئول:

اول مقاله، اثرات ریزپوشانی هسته - پوسته با استفاده از دو پوشش آلژینات سدیم و شلاک، بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس روتری در شرایط شبیه‌سازی شده معده (pH = 2) به روش بسترشناور، بررسی شد. منحنی رشد بدست‌آمده نشان داد که باکتری‌ها 16 تا 18 ساعت پس از تلقیح وارد فاز ثابت رشد شده و آماده جداسازی توده سلولی از محیط کشت، می‌باشند. بررسی اثرات دمای هوای ورودی و نسبت باکتری به قندها در فرمولاسیون، نشان داد که زنده‌مانی نسبی باکتری (%) در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و در نسبت برابر قند و باکتری (10-10) به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) افزایش نشان می‌دهد. زنده‌مانی نسبی باکتری‌های جذب شده در ماتریس هسته، قبل و پس از پوشش‌دهی در دستگاه پوشش‌دهنده بستر شناور با محلول‌های شلاک در سه غلظت 16، 17 و 18 درصد (وزنی / حجمی) و آلژینات سدیم در غلظت‌های 0/5، 1 و 1/5 درصد (وزنی / حجمی)، کاهش معنی‌داری ($P \leq 0/05$)، نشان نداد. زنده‌مانی نسبی باکتری (%) پوشش‌دهی شده با محلول آلژینات سدیم با غلظت 1 درصد (وزنی / حجمی) پس از طی دوره زمانی 1 ساعت در شرایط شبیه‌سازی شده معده با pH=2، به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) نسبت به پوشش‌های دیگر افزایش نشان داد (زاغری و همکاران، 1396). فورتول و ترازاس (2012)، باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس را در محلولی شامل ایزوله پروتئین آب‌پنیر، کربوکسی‌متیل سلولز، پکتین و اینولین به‌وسیله خشک‌کن پاششی، ریزپوشانی و در مخلوطی با نشاسته به سطح نان نیمه‌پخته، افزودند. علت استفاده از نان‌های نیمه‌پخته، مدت زمان کمتری است که برای پخت کامل نیاز دارند. در این تحقیق، باکتری‌های پروبیوتیک پس از پخت و 24 ساعت پس از آن زنده باقی ماندند. سوکولیس و همکاران (2014)، لاکتوباسیلوس/مانوسوس را به فیلمی از آلژینات سدیم 1 درصد و کنسانتره پروتئین آب پنیر 2 درصد، اضافه و فیلم را به سطح خمیر نان نیمه‌پخته افزودند و سپس در دو مرحله (دمای 60 درجه سانتی‌گراد، به مدت 10 دقیقه) و (دمای 180 درجه سانتی‌گراد، به مدت 2 دقیقه)، سطح نان را خشک کردند. وجود کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و پوشش آلژینات سدیم، منجر به افزایش معنی‌داری در تعداد باکتری‌های زنده پس از پخت، تحمل شرایط شبیه‌سازی شده معده و نگهداری، در مقایسه با نمونه شاهد (بدون پوشش) گردید. راهکارهای آرایه شده جهت تولید نان پروبیوتیک شامل به‌کارگیری گونه‌هایی از باکتری‌های پروبیوتیک که به‌صورت طبیعی و یا به دلیل دستکاری ژنتیکی، مقاوم به دماهای بالا، می‌باشند و یا ریزپوشانی با ترکیباتی که قادر به افزایش مقاومت حرارتی باکتری‌ها باشند، می‌گردند (Anal & Singh., 2007). اکبک و هاگانسون (2012)، دو گونه جدید مقاوم به حرارت باکتری‌های لاکتوباسیلوس، به نام‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم (LB3e) و لاکتوباسیلوس پلانتاروم (LB7c) شناسایی و با غلظت 1×10^6 (CFU/g) به خمیر نان اضافه کردند. تعداد باکتری‌های زنده پس از

پخت در دمای 220 درجه سانتی‌گراد و زمان 20 دقیقه، به میزان 2×10^3 (CFU/g) کاهش یافت. ایمن‌بودن و میزان اثرات پروبیوتیکی باکتری‌های بکاربرده شده، هنوز تایید نشده است. گنججوری و همکاران (1391)، باسیلوس کواگلانس را به‌عنوان پروبیوتیک مقاوم به حرارت، برای غنی‌سازی نان‌های حجیم استفاده کردند که طی آن تعداد باکتری‌ها از 10^8 به 10^6 در هر گرم، پس از پخت نان کاهش یافت. ریزپوشانی تک‌لایه قادر به ایجاد مقاومت لازم در باکتری‌های پروبیوتیک در برابر شرایط حرارتی و اسیدی نمی‌باشد (Desai & park, 2005). ریزپوشانی چندلایه به روش بسترشناور، روشی نوین در پوشش‌دهی باکتری‌های پروبیوتیک، به‌شمار می‌آید که طی آن، چندین لایه از ترکیبات پوششی، پیرامون هسته اولیه، با هدف کاهش نفوذ حرارت به مرکز هسته و افزایش مقاومت در برابر pH‌های پایین، تشکیل می‌شوند (Zorea & penhasi, 2012). بورگین و همکاران (2011) از پوشش دولایه برای ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک استفاده کردند که لایه اول شامل پپتید سویا و لایه دوم شامل سلولز و صمغ بود و نشان دادند که کاربرد پوشش‌دهی دولایه منجر به افزایش زنده‌مانی باکتری در عبور از محیط اسیدی معده و رهایش کنترل شده آن در روده می‌شود (Burgain, et al., 2011).

در این تحقیق اثرات ریزپوشانی با ترکیبات کیتوزان در غلظت‌های 0/5، 1 و 1/5 درصد (وزنی / حجمی)، صمغ عربی در غلظت‌های 1/5، 3 و 6 درصد (وزنی / حجمی) و کلرید کلسیم 5% (وزنی / حجمی)، به‌عنوان لایه دوم، بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس روتری پس از اعمال فرآیند حرارتی (دمای 80 درجه سانتی‌گراد در زمان‌های 15 و 30 دقیقه) و همچنین اثر پوشش‌دهی با کیتوزان 1% و کلرید کلسیم 5% بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%، 1 و 24 ساعت پس از پخت نان (دمای 180 درجه سانتی‌گراد و زمان 20 دقیقه)، با هدف دستیابی به فن‌آوری تولید نان پروبیوتیک، بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در این تحقیق شامل مالتودکسترین و سوربیتول (DE=3) (تهیه محلول قند)، آلژینات سدیم (پوشش لایه اول)، کیتوزان (پوشش لایه دوم)، پیسین و بافر فسفات (pH = 7/2) (شبیه‌سازی شرایط محیط اسیدی معده) از شرکت سیگما-آلدریچ (آلمان)، کلرید کلسیم (پوشش لایه دوم)، کلرید سدیم (شبیه‌سازی شرایط محیط اسیدی معده)، اسید کلریدریک (شبیه‌سازی شرایط محیط اسیدی معده)، صمغ عربی (پوشش لایه دوم) و پودر شیر پس‌چرخ (تهیه پودر باکتری) از شرکت مرک (آلمان)، شلاک (پوشش لایه اول) از شرکت آکوگلد (آلمان)، میکروکریستالین سلولز (Avicel-ph-20) (حامل خنثی و جاذب باکتری)، از شرکت افام‌سی بیوپلیمر

پوشش‌های دیگر افزایش نشان داد و به‌عنوان پوشش مناسب برای لایه اول انتخاب شد (زاغری و همکاران، 1396). سپس باکتری‌های ریزپوشانی شده با آلژینات سدیم 1 درصد در لایه اول با صمغ عربی، کیتوزان و کلرید کلسیم در لایه دوم پوشش‌دهی شدند.

پودر کیتوزان در غلظت‌های 0/5، 1 و 1/5 درصد توزین و در 10 میلی‌لیتر اسید استیک 1 درصد حل شده و با سود 0/1 نرمال pH آن بر روی 5 تنظیم و با آب مقطر به حجم 20 میلی‌لیتر رسانده شد. محلول‌های آبی صمغ عربی و کلرید کلسیم در غلظت‌های تحت بررسی به ترتیب (1/5، 3 و 6 درصد) و (5 درصد) تهیه شدند. محلول‌های بدست‌آمده در اتوکلاو و در دمای 121 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه استریل شدند (Michael et al., 2010). محلول‌های پوششی در غلظت‌های تحت بررسی با فشار هوای خروجی پمپ 300 میلی‌بار با سرعت 0/25 میلی‌لیتر بر دقیقه بر روی گرانول‌های مرحله قبل (پس از جذب محلول باکتری و ریزپوشانی لایه اول) که با فشار هوای شناورسازی 100 میلی‌بار و دمای 37 درجه سانتی‌گراد شناور شده‌اند، در سه تکرار پاشش شد. آزمون تعیین غلظت باکتری‌های زنده، پس از ریزپوشانی و آزمون‌های حرارتی انجام شد.

بررسی زنده‌مانی نسبی باکتری‌ها

زنده‌مانی نسبی باکتری‌ها (%) پس از آزمون حرارتی (دمای 80 درجه سانتی‌گراد در دو زمان 15 و 30 دقیقه) در نمونه‌های ریزپوشانی‌شده با کیتوزان با غلظت بهینه 1 درصد و صمغ عربی با غلظت بهینه 6 درصد و محلول کلرید کلسیم 5 درصد در دو زمان پوشش‌دهی 45 و 90 دقیقه، بررسی و با هم مقایسه شدند. سپس نمونه‌های ریزپوشانی‌شده با کیتوزان 1 درصد و کلرید کلسیم 5 درصد به خمیر نان افزوده و آزمون پخت در دمای 180 درجه سانتی‌گراد و زمان 20 دقیقه، انجام شد و اثر ریزپوشانی با کیتوزان 1 درصد و کلرید کلسیم 5 درصد بر غلظت باکتری‌های زنده در نان، 1 و 24 ساعت پس از پخت بررسی شد.

سنجش دمای مرکز نان در طول فرآیند پخت

نوک پروب ترمومتر سوزنی (TM-914، آلمان) در مرکز چانه قبل از فرگذاری قرار گرفته و تغییرات دمای خمیر در طول فرآیند پخت (دمای 180 درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه) در سه تکرار ثبت شد.

پخت نان و سنجش زنده‌مانی نسبی باکتری‌ها در نان

مواد اولیه شامل آرد گندم، نمک طعام، مخمر نانوائی، بهبوددهنده، شکر با یکدیگر مخلوط و پس از افزودن آب، در همزن

(بلژیک)، محیط کشت MRS آگار و برات از شرکت تیتان بیوتک (هندوستان)، سرم رینگر و محلول کلرید سدیم از شرکت داروسازی ثامن (ایران) و باکتری لاکتوباسیلوس روتری (PTCC-1655) به‌صورت کشت زنده، از مرکز منطقه‌ای میکروارگانیزم‌های صنعتی (ایران) تهیه شدند.

شمارش سلول‌های زنده

شمارش سلول‌های زنده در سوسپانسیون اولیه (CFU/ml) به روش کشت سطحی سنجیده شد. 0/5 میلی‌لیتر از محلول پروبیوتیک قند و باکتری برداشته و 10 بار نمونه در سرم فیزیولوژی 0/9 درصد کلرید سدیم به حجم 4/5 میلی‌لیتر رقیق شد. مقدار 100 میکرولیتر از سریال رقت‌های 7 تا 10 برداشته و روی سطح پلیت حاوی محیط کشت MRS آگار در سه تکرار کشت و به مدت 48 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری شد. نمونه‌هایی حاوی 20 تا 350 کلونی (CFU/ml) شمارش شد (Semyonov et al., 2014).

سنجش مقاومت حرارتی

باکتری‌های آزاد و ریزپوشانی‌شده، در آون (Wiseven، آلمان) و در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 و 30 دقیقه قرار گرفتند. پس از پایان آزمون حرارتی، 0/5 گرم از پودر در دمای محیط در درون هاون و در شرایط استریل، کاملاً خرد شده و در فالكون حاوی 4/5 میلی‌لیتر بافر فسفات مخلوط و پس از 10 دقیقه استراحت، به مدت 90 دقیقه در شیکر با سرعت 450 دور در دقیقه قرار داده شده و سپس از طریق آزمون کشت سطحی، غلظت باکتری‌های زنده، سنجیده و زنده‌مانی نسبی باکتری‌ها (%) نسبت به محلول پروبیوتیک اولیه محاسبه شد (Lima et al., 2009).

تهیه محلول‌های ترکیبات پوشش‌دهنده

در بخش اول این تحقیق از فن‌آوری بستر شناور (پوشش‌دهنده مدل ورستر با پاشش تحتانی)، به‌منظور تولید میکروکپسول‌های پوسته و هسته، حاوی لاکتوباسیلوس روتری استفاده شد. محلول حاوی لاکتوباسیلوس روتری و قندهای سوربیتول و مالتودکسترین با نسبت برابر قند و باکتری (10-10)، بر روی حامل خنثی (میکروکریستالین سلولز)، به‌منظور تولید گرانول‌های غیر آگلومره، با سرعت جریان محلول ورودی 0/25 میلی‌لیتر بر دقیقه و فشار هوای خروجی پمپ 300 میلی‌بار در دمای 37 درجه سانتی‌گراد پاشیده و جذب شد. باکتری‌های جذب‌شده بر روی پودر MCC با محلول شلاک در سه غلظت 16، 17 و 18 درصد (وزنی/حجمی) و آلژینات سدیم در غلظت‌های 0/5، 1 و 1/5 درصد (وزنی/حجمی) پوشش‌دهی شدند. زنده‌مانی نسبی باکتری (%) پوشش‌دهی شده با محلول آلژینات سدیم با غلظت 1 درصد (وزنی/حجمی) بعد از طی دوره زمانی 1 ساعت در شرایط شبیه‌سازی شده معده با pH=2، به‌طور معنی‌داری نسبت به

(B.Sad, ایران) با سرعت 60 دور در دقیقه به مدت 3 دقیقه مخلوط شدند، تخمیر اولیه در رطوبت نسبی 80 درصد و دمای 30 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه انجام شد. خمیر بدست آمده به چانه‌های 50 گرمی تقسیم شده و به هر یک 2 گرم از نمونه‌های ریزپوشانی شده اضافه و تخمیر نهایی به مدت 40 دقیقه در دمای 30 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 80 درصد صورت گرفت. پخت نان در دمای 180 درجه سانتی‌گراد، به مدت 20 دقیقه و رطوبت نسبی 60-70 درصد انجام شد. (Lima et al, 2009; Zorea & penhasi.,). 2012 پس از پخت نان، آزمون کشت سطحی و شمارش کلونی‌های باکتری صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل یافته‌های تحقیق، به روش تجزیه واریانس یکطرفه (One way ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش 21) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن، انجام گرفت.

نتایج و بحث

بررسی شرایط ریزپوشانی و شرایط حرارتی فرآوری نان بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%)

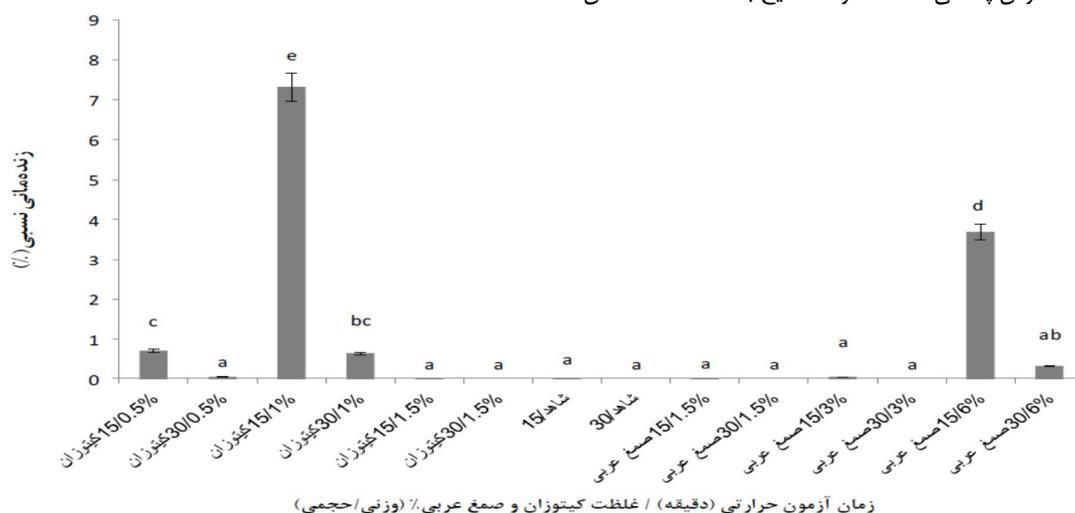
بررسی اثر غلظت کیتوزان و صمغ عربی بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%) پس از آزمون حرارتی

در شکل 1، زنده‌مانی نسبی باکتری (%) در نمونه‌های ریزپوشانی شده دولایه با آلژینات سدیم 1 درصد و کیتوزان و صمغ عربی در غلظت‌های تحت بررسی پس از آزمون حرارتی با هم مقایسه شده است. زنده‌مانی نسبی باکتری در نمونه ریزپوشانی شده با کیتوزان 1 درصد (وزنی/حجمی) در دمای 80 درجه سانتی‌گراد و زمان 15 دقیقه، 7/31 درصد بود که به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر نمونه‌ها افزایش نشان می‌دهد. زنده‌مانی نسبی باکتری در نمونه‌های ریزپوشانی شده با محلول کیتوزان 0/5 درصد در زمان 30 دقیقه، 0/05 درصد و غلظت 1/5 درصد در زمان 15 دقیقه، 0/003 درصد و زمان 30 دقیقه، صفر درصد بود که در هر دو زمان 15 و 30 دقیقه در مقایسه با نمونه شاهد پس از آزمون حرارتی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج بدست آمده نشان دادند که زنده‌مانی نسبی باکتری‌های ریزپوشانی شده با کیتوزان 0/5 درصد، پس از آزمون حرارتی 15 دقیقه، 0/7 درصد و پس از آزمون حرارتی 30 دقیقه، 0/05 درصد بود که نسبت به نمونه شاهد در هر دو زمان 15 و 30 دقیقه، افزایش نشان می‌دهد که این افزایش در زمان 15 دقیقه، معنی‌دار می‌باشد. با افزایش غلظت محلول پوششی تا 1 درصد این افزایش به سطح معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد در هر دو زمان آزمون حرارتی، رسیده است. با افزایش

بیشتر غلظت تا 1/5 درصد، زنده‌مانی نسبی باکتری (%) در مقایسه با نمونه شاهد، افزایش مشاهده نشد. افزایش غلظت در سطح 1/5 درصد باعث شد که محلول غلیظ در برخورد با جریان هوای خروجی پمپ نتواند به ذرات ریز تبدیل شده و اتمایزه شدن محلول به درستی صورت نگیرد و باعث گرفتگی نازل شود. زوریا و پنهایسی (2012)، لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم/بیفیدوم را به روش بستر شناور، با سه لایه، به ترتیب روغن جامد هیدروژنه، آلژینات سدیم 2 درصد (وزنی/وزنی) و محلول کیتوزان 4 درصد (وزنی/وزنی) ریزپوشانی نمودند. میزان زنده‌مانی نسبی (%) باکتری‌های ریزپوشانی شده پس از آزمون حرارتی در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 و 45 دقیقه، کاهش معنی‌داری مشاهده نشد در حالی که در نمونه شاهد (بدون پوشش) کاهش معنی‌داری نشان داد. در تحقیق حاضر با افزایش زمان حرارت‌دهی از 15 به 30 دقیقه، کاهش معنی‌داری در زنده‌مانی نسبی باکتری ریزپوشانی شده با کیتوزان 1 درصد (وزنی/حجمی) مشاهده شد که با نتایج آنان، همخوانی ندارد. دلیل احتمالی عدم همخوانی، افزودن لایه روغنی بر روی هسته میکروکپسول می‌تواند باشد که به‌عنوان عایق حرارتی عمل کرده و محافظت بیشتری از باکتری در برابر حرارت فراهم می‌کند. کی و همکاران (2011)، لاکتوباسیلوس/برویس را با آلژینات سدیم 2 درصد (وزنی/حجمی)، کلرید کلسیم 3 درصد (وزنی/حجمی) و کیتوزان 2 درصد (وزنی/حجمی) به روش امولسیون، ریزپوشانی و میزان زنده‌مانی باکتری را پس از آزمون حرارتی در دمای 85 درجه سانتی‌گراد به مدت 3 دقیقه بررسی و نشان دادند که میزان زنده‌مانی نسبی باکتری پس از اعمال حرارت، 10 برابر کاهش می‌یابد. فارز و همکاران (2015)، لاکتوباسیلوس/پلانتروم را با آلژینات سدیم 1 درصد (وزنی/حجمی)، زانتان 1 درصد (وزنی/حجمی)، کلرید کلسیم 0/1 مولار و کیتوزان 0/2 درصد (وزنی/حجمی) به روش اکستروژن و خشک کردن انجمادی ریزپوشانی کردند و میزان زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی شده را در دمای 75 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه، 90 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 ثانیه و 62/5 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه، بررسی کردند. نتایج بررسی نشان داد که ساختار ریزپوشانی شده با صمغ زانتان، آلژینات سدیم و کیتوزان به علت تشکیل ماتریس سنگین‌تر و قطر بیشتر، می‌تواند محافظت بیشتری از باکتری در برابر اعمال دماهای بالا ایجاد کند. در تحقیق حاضر نیز، با افزایش غلظت محلول پوششی کیتوزان از 0/5 به 1 درصد (وزنی/حجمی)، میکروکپسول با ساختار سنگین‌تر و قطر بیشتر بدست آمد که موجب افزایش زنده‌مانی باکتری از 4 تا 33 درصد پس از تحمل دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت زمان 15 دقیقه شد. طالب‌زاده و همکاران (2014)، لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس را با آلژینات سدیم 3 درصد (وزنی/حجمی)، کلرید کلسیم 0/1 مولار و کیتوزان 0/4 درصد (وزنی/حجمی) با روش امولسیون پوشش‌دهی کردند و میزان

دادند که ریزپوشانی با صمغ عربی در دماهای بکاررفته (100-105 درجه سانتی‌گراد)، باعث افزایش غلظت باکتری‌های زنده به میزان 10 برابر، نسبت به نمونه شاهد می‌گردد. همچنین غلظت باکتری‌های زنده ریزپوشانی شده در شرایط شبیه‌سازی شده معده و شرایط نگهداری در دماهای 4، 15 و 30 درجه سانتی‌گراد، به ترتیب، 100 برابر و 1000 برابر بیشتر از نمونه شاهد بود. موسیلی (2003)، اثرات دما و زمان فرآیند حرارتی بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس ریزپوشانی شده با صمغ عربی، (صمغ عربی و پروتئین آب‌پنیر) و (صمغ عربی و پروتئین سویا) را بررسی و نشان دادند که پوشش صمغ عربی به تنهایی نمی‌تواند محافظت کافی را در برابر اعمال دماهای بالا ایجاد کند به گونه‌ای که پوشش پروتئین آب‌پنیر و صمغ عربی کارایی بیشتری در محافظت باکتری در برابر فرآیند حرارتی نسبت به دو ترکیب دیگر، نشان داد که دنا توره‌شدن پروتئین آب‌پنیر در دماهای بالا می‌تواند علت این پدیده باشد. بهزادی و همکاران (2013)، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم را با صمغ عربی و مالتودکسترین به روش بستر شناور ریزپوشانی و تاثیر دمای 60 درجه سانتی‌گراد در زمان‌های (60، 90، 120، 240، 360 و 600 ثانیه) را بر زنده‌مانی باکتری بررسی و نشان دادند که ریزپوشانی باکتری با ترکیب صمغ عربی و مالتودکسترین در مقایسه با ریزپوشانی با مالتودکسترین به تنهایی، کارایی بالاتری در محافظت از باکتری در برابر تنش حرارتی دارد. در تحقیق حاضر نیز از مالتودکسترین (در مرکز هسته) و پوشش صمغ عربی 6 درصد (وزنی/حجمی) استفاده شد که میزان زنده‌مانی نسبی (%) در نمونه ریزپوشانی شده پس از آزمون حرارتی 80 درجه سانتی‌گراد در زمان 15 دقیقه، 3/7 درصد بود.

زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی‌شده را پس از آزمون حرارتی در دمای 70 درجه سانتی‌گراد به مدت 25 دقیقه بررسی کردند. تعداد باکتری‌های زنده در نمونه‌های ریزپوشانی‌شده با آلژینات سدیم، (آلژینات سدیم و کیتوزان) و نمونه شاهد به ترتیب 2/46، 2/1 و 4/89 سیکل لگاریتمی کاهش یافت. نتایج بررسی نشان داد میزان زنده‌مانی باکتری با افزودن کیتوزان به ترکیب پوشش، افزایش می‌یابد که با نتایج تحقیق حاضر، مطابقت دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که زنده‌مانی نسبی باکتری‌ها (%) در نمونه ریزپوشانی‌شده با صمغ عربی 6 درصد (وزنی/حجمی) در دمای 80 درجه سانتی‌گراد و زمان 15 دقیقه، 3/7 درصد بود که به‌طور معنی‌داری نسبت به غلظت‌های دیگر از صمغ عربی افزایش نشان داد. زنده‌مانی نسبی باکتری (%) در نمونه‌های ریزپوشانی شده با محلول صمغ عربی 1/5 درصد در زمان 15 دقیقه، 0/004 درصد و در زمان 30 دقیقه صفر درصد و محلول صمغ عربی 3 درصد (وزنی/حجمی) در دو زمان 15 و 30 دقیقه، به ترتیب (0/041 و صفر درصد) بود که در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج بررسی نشان داد که زنده‌مانی نسبی باکتری (%) پس از آزمون حرارتی با افزایش غلظت محلول پوششی صمغ عربی، نسبت به نمونه بدون پوشش در هر دو زمان (15 و 30 دقیقه)، افزایش یافته و این افزایش در نمونه ریزپوشانی شده با صمغ عربی 6 درصد به سطح معنی‌داری می‌رسد. در نمونه ریزپوشانی شده با صمغ عربی 6 درصد، با افزایش زمان از 15 به 30 دقیقه، زنده‌مانی نسبی (%) به ترتیب (3/7 و 0/31 درصد) بود که کاهش معنی‌داری در زنده‌مانی نسبی باکتری (%) مشاهده می‌شود. دسموند و همکاران (2002)، از صمغ عربی برای ریزپوشانی لاکتوباسیلوس کازئی، به روش خشک کردن پاششی استفاده کردند. نتایج بدست آمده نشان



شکل 1: بررسی ریزپوشانی با کیتوزان و صمغ عربی در غلظت‌های تحت بررسی بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%) پس از آزمون حرارتی (اعداد نمودار بیانگر میانگین سه تکرار آزمایش هستند و حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 0/05 در می‌باشد)

بررسی اثر زمان ریزپوشانی با کیتوزان 1 درصد، صمغ عربی 6 درصد و کلرید کلسیم 5 درصد بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%) پس از آزمون حرارتی

زنده‌مانی نسبی باکتری (%) در ریزپوشانی با کلرید کلسیم 5 درصد به مدت 90 دقیقه پس از آزمون حرارتی (دمای 80 درجه سانتی‌گراد و زمان 15 دقیقه)، 9 درصد بود که به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه‌های دیگر افزایش نشان داد. زنده‌مانی نسبی باکتری (%) در همه نمونه‌های ریزپوشانی شده دولایه به مدت زمان 45 دقیقه، در آزمون حرارتی (دمای 80 درجه سانتی‌گراد و زمان 30 دقیقه) در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج بررسی نشان داد که با افزایش زمان پوشش‌دهی از 45 به 90 دقیقه، زنده‌مانی نسبی باکتری (%) پس از آزمون حرارتی، افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند. افزایش زمان آزمون حرارتی از 15 به 30 دقیقه، کاهش معنی‌داری در زنده‌مانی نسبی باکتری (%) ایجاد می‌کند. بر این اساس، با افزایش زمان پوشش‌دهی، قطر میکروکپسول‌ها افزایش، میزان انتقال حرارت به قسمت مرکز هسته کاهش و زنده‌مانی باکتری افزایش می‌یابد. سابیخی و همکاران (2010)، میزان زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس ریزپوشانی شده با آلژینات سدیم 4 درصد (وزنی/حجمی)، 2 درصد نشاسته ذرت، محلول کلرید کلسیم 0/1 مولار و 1 درصد استتاریک اسید به روش امولسیون را پس از فرآیند حرارتی در دماهای 72، 85 و 90 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه بررسی و نشان دادند که زنده‌مانی باکتری‌های ریزپوشانی شده در تمامی دماهای تحت بررسی نسبت به شاهد، افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. پوئم و همکاران (2015)، بیفیدوباکتریوم/لانگوم را با آلژینات سدیم 2 درصد (وزنی/حجمی)، کلرید کلسیم 0/1 مولار و فروکتوالیگوساکارید 1 درصد به دو روش اکستروژن و امولسیون ریزپوشانی و زنده‌مانی باکتری‌ها را پس از آزمون حرارتی در دمای 65 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 و 30 دقیقه بررسی کردند. زنده‌مانی باکتری‌های ریزپوشانی شده به روش اکستروژن در مقایسه با روش امولسیون پس از آزمون حرارتی در دو زمان بررسی شده، افزایش معنی‌داری نشان داد. بکارگیری روش اکستروژن در ریزپوشانی باعث افزایش قطر میکروکپسول‌ها و به دنبال آن، افزایش زنده‌مانی باکتری می‌شود که با نتایج بدست‌آمده در این تحقیق همخوانی دارد. ماندل و همکاران (2006)، لاکتوباسیلوس/کازئی را با آلژینات سدیم در غلظت‌های 2، 3 و 4 درصد (وزنی/حجمی) و محلول کلرید کلسیم 0/1 مولار به روش امولسیون ریزپوشانی و زنده‌مانی باکتری را پس از آزمون حرارتی در دماهای 55، 60 و 65 درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه بررسی کردند. نتایج بررسی نشان داد که با افزایش غلظت آلژینات سدیم در پوشش، زنده‌مانی باکتری افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر بیشترین میزان زنده‌مانی 9 درصد بود که در نمونه‌های

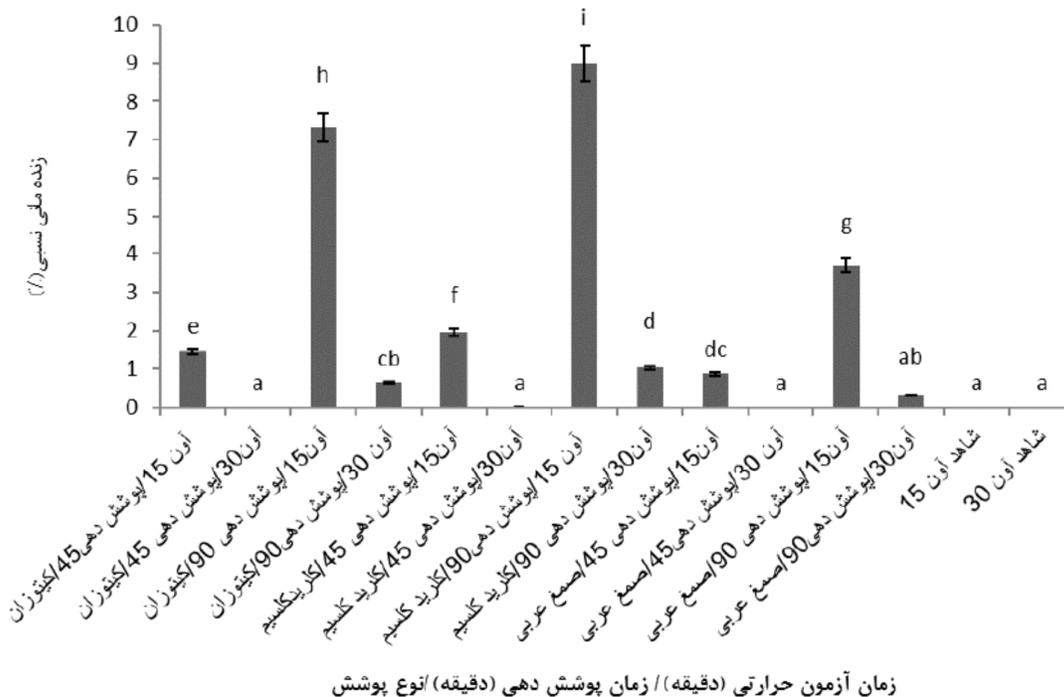
ریزپوشانی شده با آلژینات سدیم 1 درصد (وزنی/حجمی) و محلول کلرید کلسیم 5 درصد (وزنی/حجمی) با ترکیب‌های پری‌بیوتیک مالتودکسترین و سوربیتول در مرکز هسته پس از قرارگیری در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه، بدست آمد. نتایج تحقیق طالب‌زاده و همکاران (2014)، نشان‌دادند که زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در نمونه‌های ریزپوشانی شده با آلژینات سدیم، (آلژینات سدیم و کیتوزان) و نمونه شاهد پس از آزمون حرارتی در دمای 70 درجه سانتی‌گراد به مدت 25 دقیقه به ترتیب 2/1، 4/89 و 4/89 سیکل لگاریتمی، کاهش می‌یابد و نتیجه گرفتند که میزان زنده‌مانی باکتری با افزودن کیتوزان به ترکیب پوشش و افزایش قطر میکروکپسول، افزایش می‌یابد. فارز و همکاران (2015)، در ریزپوشانی لاکتوباسیلوس/پلانتروم نشان دادند که با افزایش زمان پوشش‌دهی از 45 به 90 دقیقه، زنده‌مانی باکتری‌های پس از اعمال فرآیند حرارتی، افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر نیز با افزایش زمان پوشش‌دهی، قطر میکروکپسول افزایش و میزان انتقال حرارت به قسمت مرکز هسته کاهش و زنده‌مانی باکتری افزایش یافت.

بررسی اثر دما و زمان آزمون حرارتی بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%) ریزپوشانی شده با صمغ عربی 6 درصد، کیتوزان 1 درصد و کلرید کلسیم 5 درصد

زنده‌مانی نسبی باکتری (%) در میکروکپسول‌های دولایه با آلژینات سدیم 1 درصد در لایه اول و صمغ عربی، کیتوزان و کلرید کلسیم در لایه دوم پس از آزمون حرارتی بررسی د (شکل 3). زنده‌مانی نسبی باکتری (%) در ریزپوشانی با کلرید کلسیم 5 درصد (وزنی/حجمی) در دمای 80 درجه سانتی‌گراد و زمان 15 دقیقه به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه‌های دیگر افزایش نشان داد. زنده‌مانی نسبی باکتری (%) در نمونه پوشش‌دهی شده دو لایه با محلول کلرید کلسیم 5 درصد در هر دو زمان آزمون حرارتی (15 و 30 دقیقه) به ترتیب (9 و 1/5 درصد) بود که در مقایسه با نمونه‌های دیگر افزایش معنی‌داری نشان داد. زنده‌مانی نسبی باکتری (%)، تنها در نمونه ریزپوشانی شده با صمغ عربی 6 درصد پس از آزمون حرارتی (زمان 30 دقیقه)، 0/002 درصد بود که در مقایسه با سایر نمونه‌ها افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد نشان نداد. با افزایش زمان آزمون حرارتی از 15 به 30 دقیقه، در تمامی ترکیبات به‌کاررفته در ریزپوشانی، کاهش معنی‌داری در زنده‌مانی نسبی باکتری (%) مشاهده شد. چاندرامولی و همکاران (2004)، از آلژینات کلسیم برای ریزپوشانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس استفاده کردند. در این تحقیق اثر کپسول‌هایی با ابعاد 200، 450 و 1000 میکرومتر و غلظت‌های 0/75، 1، 1/5، 1/8 و 2 % (وزنی/حجمی) از آلژینات و غلظت‌های متفاوتی از کلرید کلسیم 0/1، 0/2 و 1 مولار، در میزان زنده‌مانی

میکروارگانسیم، ترکیبات پری بیوتیک و هم چنین ترکیبات بکاررفته در ریزپوشانی، وابسته است (Kearney et al., 2009). در این تحقیق پوشش آلژینات سدیم 1 درصد (وزنی/حجمی) به عنوان پوشش لایه اول به کار رفت. آلژینات سدیم توانایی تشکیل سریع ژل پیرامون باکتری را دارد، علاوه بر آن، ترکیبی است ارزان و غیر سمی و سهولت آماده سازی و آزادسازی آن در روده و قابلیت هضم آسان توسط میکروارگانسیمها در روده باعث شده که به طور گسترده در فرآیند ریزپوشانی باکتریها به کار رود.

باکتریهای ریزپوشانی شده، در شرایط شبیه سازی شده معده، بررسی گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش قطر کپسول و غلظت آلژینات سدیم، میزان زندهمانی باکتریهای ریزپوشانی شده افزایش می یابد ولی با افزایش غلظت کلریدکلسیم، تفاوت معنی داری در افزایش زندهمانی باکتری ریزپوشانی شده، مشاهده نمی شود. در این تحقیق نیز کلریدکلسیم در یک غلظت به کار برده شد. میزان زندهمانی باکتری در فرآیند ریزپوشانی، پس از اعمال فرآیند حرارتی و هم چنین طی دوره زمانی در شرایط شبیه سازی شده معده، به گونه

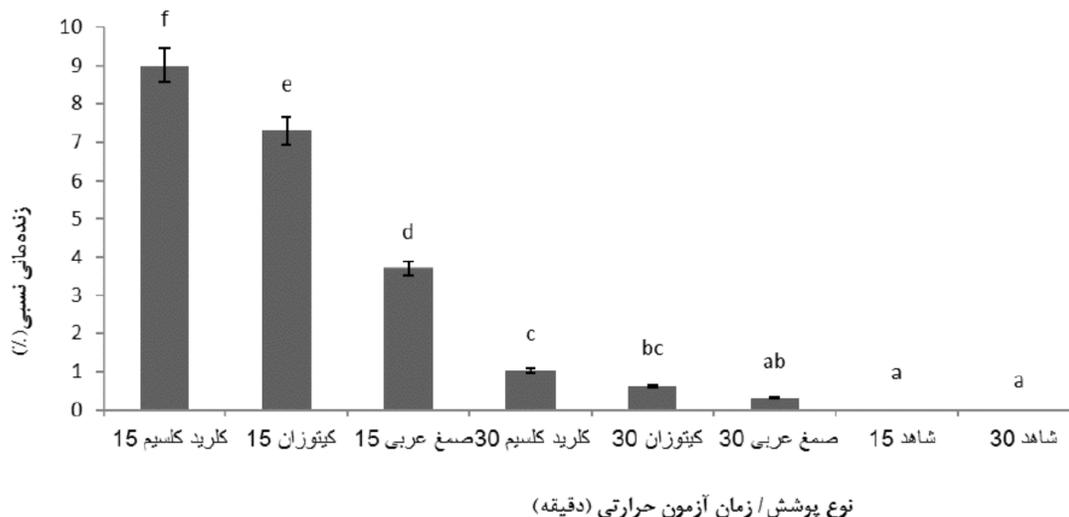


شکل 2- مقایسه اثر زمان ریزپوشانی با کیتوزان 1 درصد (وزنی/حجمی) و صمغ عربی 6 درصد (وزنی/حجمی) و کلریدکلسیم 5 درصد (وزنی/حجمی) بر زندهمانی نسبی باکتری (%) پس از آزمون حرارتی (اعداد نمودار میانگین سه تکرار آزمایش هستند و حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح 0/05 می باشد)

صمغ عربی، کیتوزان و کلریدکلسیم در لایه دوم ریزپوشانی شدند. میزان زندهمانی در پودر پوشش دهی شده با محلول کلریدکلسیم با غلظت 5 درصد (وزنی/حجمی) در دمای 80 درجه سانتی گراد و زمان 15 دقیقه، 9 درصد و با پوشش کیتوزان و صمغ عربی به ترتیب 7/31 و 3/7 درصد بود. صمغ کیتوزان توانایی بالایی در تشکیل فیلم دارد. کاربرد کیتوزان در پوشش منجر به بهبود زندهمانی باکتری در برابر اعمال دماهای بالا و شرایط اسیدی می گردد. در هنگام بکارگیری پوشش کیتوزان به منظور ریزپوشانی بایستی خاصیت ضد میکروبی و اثر منفی آن بر زندهمانی باکتریها در نظر گرفته شود (Chavarri et al., 1988; Zhou, 2006; Capela, 2010). خاصیت ضد میکروبی کیتوزان می تواند کاهش 1/69 درصدی در میزان زندهمانی

از طرف دیگر آلژینات سدیم به محیط اسیدی حساس بوده و در لاکتیک اسید پایداری خود را از دست می دهد. پوشش آلژینات سدیم موجب ایجاد شکستگی و تخلخل در سطح کپسول می شود که به انتشار سریع رطوبت و مایعات از طریق کپسول کمک می کند و خاصیت محافظت کنندگی کپسول در برابر عوامل خارجی را کاهش می دهد. به همین منظور در تحقیقات صورت گرفته از آلژینات سدیم همراه با پلیمرهای دیگر همانند نشاسته در پوشش کپسول استفاده شده است. آلژینات سدیم همراه با کیتوزان تشکیل شبکه ای با ویژگی های محافظت بالا در برابر شرایط نامطلوب محیطی را می دهد (Solanki et al., 2013). در این تحقیق باکتریها در کپسول های دولایه با پوشش آلژینات سدیم 1 درصد در لایه اول و پوشش های

باکتری‌های ریزپوشانی شده با محلول کیتوزان را در مقایسه با پوشش کلرید کلسیم توجیه کند.

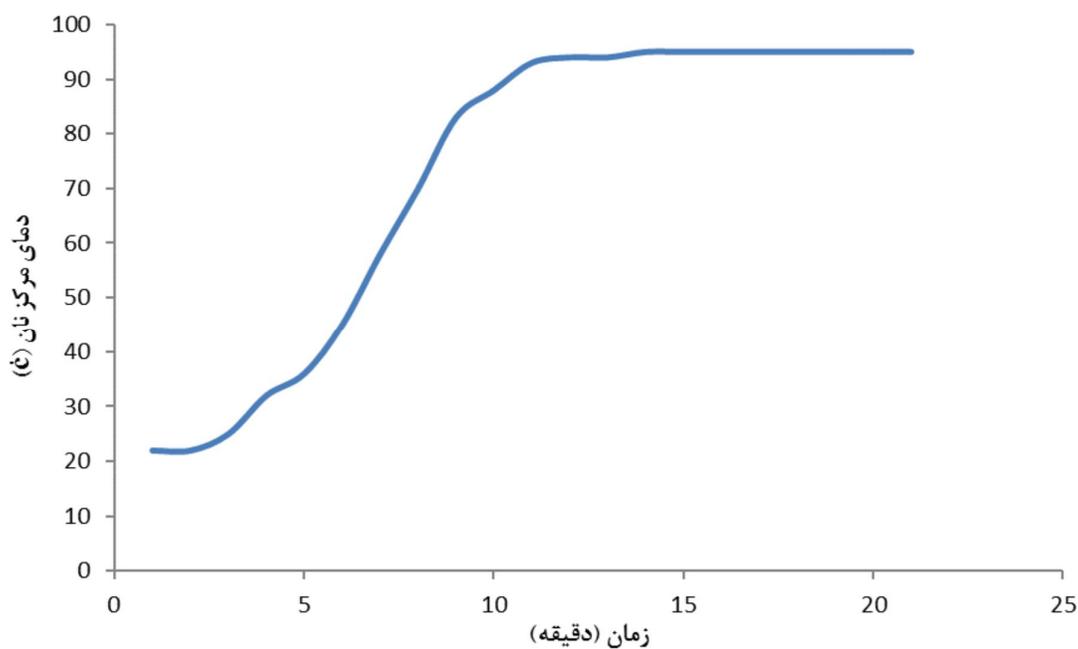


شکل 3- بررسی اثر ریزپوشانی دولایه آلژینات سدیم 1 درصد و صمغ عربی 6 درصد و کیتوزان 1 درصد و کلرید کلسیم 5 درصد بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%) پس از آزمون حرارتی (اعداد نمودار بیانگر میانگین سه تکرار آزمایش هستند و حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 0/05 می‌باشد)

دقیقه) بیش از 80 درجه سانتی‌گراد بود و از دقیقه سیزدهم تا بیستم (7 دقیقه) در دمای 95 درجه سانتی‌گراد ثابت ماند (شکل 4).

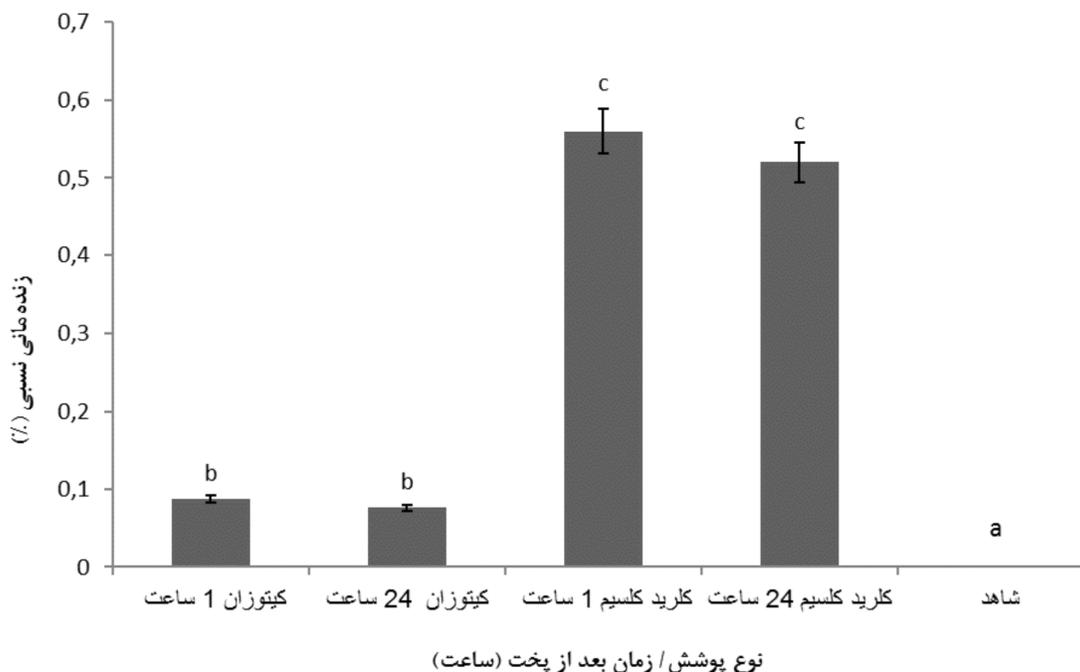
منحنی دمای پخت در مرکز نان

هدف از انجام این آزمایش تعیین تغییرات دما در مرکز نان در طول دوره پخت بود. دما در مرکز نان از دقیقه هشتم تا بیستم (12



شکل 4- تغییرات دمای مرکز خمیر در طول دوره پخت نان

ساعت پس از پخت نان به ترتیب (0/56 و 0/52 درصد) بود که به طور معنی داری نسبت به نمونه‌های ریزپوشانی شده با کیتوزان، افزایش نشان داد (شکل 5). زنده‌مانی نسبی باکتری‌ها (%) در نمونه‌های ریزپوشانی شده، 1 و 24 ساعت پس از پخت نان، نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. اختلاف معنی‌داری در زنده‌مانی نسبی (%) نمونه‌های ریزپوشانی شده، 1 و 24 ساعت پس از پخت، مشاهده نشد. زوریا و پنهاسی (2012)، لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم/بیفیدوم ریزپوشانی شده به صورت سه لایه متشکل از روغن جامد هیدروژنه (لایه اول)، آلزینات سدیم 2 درصد (وزنی/حجمی) (لایه دوم) و کلرید کلسیم 5 درصد (وزنی/حجمی) (لایه سوم)، را تحت آزمون پخت نان (دمای 200 درجه سانتی‌گراد به مدت زمان 10 دقیقه) قرار دادند و میزان زنده‌مانی نسبی باکتری (50 تا 80 درصد) با شمارش اولیه، 10^9 (CFU/ml) را بدست آوردند.



شکل 5- بررسی اثرات ریزپوشانی با کیتوزان 1 درصد و کلرید کلسیم 5 درصد بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%، 1 و 24 ساعت پس از پخت نان (اعداد نمودار بیانگر میانگین سه تکرار آزمایش هستند و حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 05/ می‌باشد)

پخت نان است که معیار شاخص در تعریف فرآورده‌های پروبیوتیک می‌باشد. در هر دو پوشش 1 و 24 ساعت پس از پخت بیشتر از، 10^6 (CFU/g) باکتری زنده باقی مانده‌اند. با توجه به تعریف فرآورده‌های غذایی سین‌بیوتیک (حضور بالاتر از 10^6 باکتری زنده در هر گرم ماده غذایی به همراه ترکیبات پری‌بیوتیک (حضور ترکیبات قندی سوربیتول و مالتودکسترین در مرکز هسته)، این دو فرآورده سین‌بیوتیک هستند. تولید نان‌های پروبیوتیک به علت دمای بالایی که در زمان پخت بر

بررسی تاثیر شرایط نگهداری نان بر زنده‌مانی باکتری‌ها
همان‌طور که در شکل 3 نشان داده شد، زنده‌مانی نسبی باکتری (%)، در پودر پوشش‌دهی شده با صمغ عربی 6 درصد پس از آزمون حرارتی (زمان 30 دقیقه)، در مقایسه با سایر پوشش‌ها افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد نشان نداد. به همین علت میکروکپسول‌ها با پوشش لایه دوم کیتوزان 1 درصد و کلرید کلسیم 5 درصد برای افزودن به خمیر نان استفاده شد.

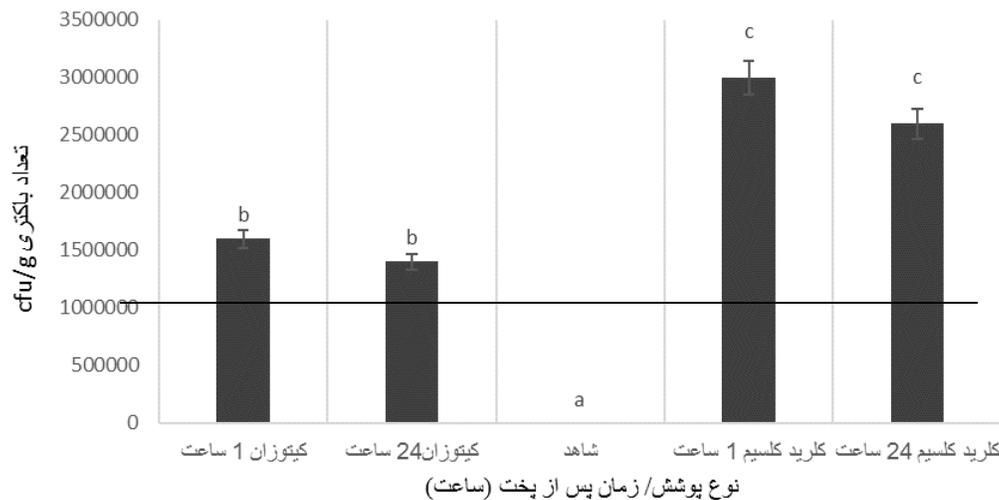
بررسی اثرات ریزپوشانی با کیتوزان 1 درصد و کلرید کلسیم 5 درصد بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%، 1 و 24 ساعت پس از پخت نان

زنده‌مانی نسبی باکتری (%) در نمونه‌های ریزپوشانی شده با کلرید کلسیم 5 درصد (وزنی/حجمی) به طور معنی‌داری، 1 و 24

بررسی اثرات ریزپوشانی با کیتوزان 1 درصد و کلرید کلسیم 5 درصد بر تعداد باکتری (CFU/g) به مدت 1 و 24 ساعت پس از پخت نان

تعداد باکتری‌ها، در نمونه‌های ریزپوشانی شده با کلرید کلسیم 5 درصد (وزنی/حجمی) به طور معنی‌داری، 1 و 24 ساعت پس از پخت، نسبت به کیتوزان اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل 6). خط افقی بکاررفته در شکل نشان‌دهنده تعداد، 10^6 (CFU/g) باکتری پس از

محلول پروبیوتیک اولیه بود. برخلاف نتایج بدست آمده توسط سوکولیس و همکاران (2014) و فورتول و ترازاس (2012)، کاهش معنی‌داری در میزان زنده‌مانی باکتری 1 ساعت پس از پخت و 24 ساعت پس از آن، در دو پوشش به کار رفته مشاهده نشد. در تحقیق حاضر میکروکپسول‌ها به صورت هسته و پوسته می‌باشند. باکتری‌ها در مرکز هسته قرار گرفته و کمتر تحت تاثیر تنش‌های خارجی و داخلی قرار می‌گیرند، باکتری‌های ریزپوشانی شده به صورت پودر به مرکز نان قبل از پخت افزوده شدند و علاوه بر سهولت مصرف، بر روی ویژگی‌های پوسته نان تاثیرگذار نبودند.



شکل 6- بررسی اثرات ریزپوشانی با کیتوزان 1 درصد و کلرید کلسیم 5 درصد بر تعداد باکتری (CFU/g) 1 و 24 ساعت پس از پخت نان (اعداد نمودار بیانگر میانگین سه تکرار آزمایش هستند و حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 0/05 می‌باشد)

نشان داد. تاثیر زمان پوشش‌دهی (45 و 90 دقیقه) با محلول کلرید کلسیم 5 درصد و کیتوزان و صمغ عربی در غلظت‌های به ترتیب 1 و 6 درصد (وزنی/ حجمی)، بر زنده‌مانی نسبی باکتری (%) پس از آزمون مقاومت حرارتی در دمای 80 درجه سانتی‌گراد و زمان‌های 15 و 30 دقیقه بررسی شد. زنده‌مانی باکتری، در پودر پوشش‌دهی شده به مدت 90 دقیقه، با محلول کلرید کلسیم با غلظت 5 درصد (وزنی/ حجمی) در دمای 80 درجه سانتی‌گراد و زمان 15 دقیقه، 9 درصد نسبت به غلظت باکتری‌های زنده (CFU/ml) در محلول اولیه بود و به طور معنی‌داری نسبت به پوشش‌های دیگر افزایش نشان داد. نتایج بررسی نشان داد که با افزایش زمان پوشش‌دهی، قطر میکروکپسول افزایش و میزان انتقال حرارت به قسمت مرکز هسته کاهش پیدا کرده و زنده‌مانی باکتری افزایش می‌یابد. میزان زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی شده با کلرید کلسیم با غلظت 5 درصد (وزنی/ حجمی)، 1 و 24 ساعت پس از پخت در نان به ترتیب (0/56 و 0/52 درصد) بود

باکتری‌های حساس به حرارت وارد می‌شود هنوز گسترش نیافته است. در برخی تحقیقات، باکتری‌های ریزپوشانی شده به صورت فیلمی نازک بر روی سطح نان در اواخر دوره پخت، اضافه شد (فورتول و ترازاس (2012)، سوکولیس و همکاران (2014)). در تحقیق حاضر میزان زنده‌مانی نسبی باکتری‌های ریزپوشانی شده با محلول کلرید کلسیم 1 ساعت پس از پخت و 24 ساعت پس از آن به طور معنی‌داری نسبت به محلول کیتوزان افزایش یافت. میزان زنده‌مانی باکتری‌های ریزپوشانی شده با محلول کلرید کلسیم، 1 ساعت پس از پخت و 24 ساعت پس از آن به ترتیب (0/56 و 0/52 درصد) و برای پوشش کیتوزان (0/4 و 0/36 درصد) نسبت به زنده‌مانی باکتری در

نتیجه‌گیری

در این تحقیق از پوشش کیتوزان در غلظت‌های 0/5، 1 و 1/5 درصد (وزنی/ حجمی)، کلرید کلسیم 5 درصد و صمغ عربی در غلظت‌های 1/5، 3 و 6 درصد (وزنی/ حجمی) برای ریزپوشانی لایه دوم لاکتوباسیلوس روتری به مدت 90 دقیقه با استفاده از روش بسترشناور، استفاده شد. آزمون حرارتی در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 و 30 دقیقه انجام شد. میزان زنده‌مانی باکتری در ریزپوشانی با کیتوزان، صمغ عربی و کلرید کلسیم با غلظت‌های به ترتیب 1، 6 و 5 درصد (وزنی/ حجمی)، در آزمون حرارتی به مدت زمان 15 دقیقه به ترتیب (7/31 و 3/7 و 9 درصد) بود که افزایش معنی‌داری نسبت به دیگر غلظت‌های مورد آزمایش مشاهده شد. میزان زنده‌مانی نسبی باکتری‌های ریزپوشانی شده با کلرید کلسیم 5 درصد (وزنی/ حجمی) پس از آزمون حرارتی در دمای 80 درجه سانتی‌گراد و زمان 15 دقیقه، 9 درصد بود که افزایش معنی‌داری

باکتری زنده در هر گرم ماده غذایی به همراه ترکیبات پری بیوتیک، این دو فرآورده با توجه به حضور ترکیبات قندی سوربیتول و مانئودکسترین در مرکز هسته، سین بیوتیک هستند. نتایج تحقیق نشان داد که میکروکپسول های تشکیل شده به صورت هسته (محلول قند و باکتری جذب شده بر روی میکرو کریستالین سلولز) و پوسته (پوشش های بررسی شده) به علت قرار گرفتن باکتری در مرکز هسته، کمتر تحت تاثیر تنش های بیرونی (دماهای بالا و pH های پایین) و داخلی (فشار اسمزی، تغییرات رطوبت و عوامل به وجود آورنده بیاتی) قرار می گیرند و باکتری های ریزپوشانی شده را به صورت پودر می توان به مرکز نان قبل از پخت افزود که علاوه بر سهولت مصرف، بر روی ویژگی های پوسته نان تاثیر نامطلوب نمی گذارند.

که به طور معنی داری نسبت به نمونه ریزپوشانی شده با کیتوزان 1 درصد افزایش نشان داد. در هر دو پوشش 1 و 24 ساعت پس از پخت بیشتر از 10^6 (CFU/g) باکتری زنده باقی ماندند. تحقیق حاضر روشی را برای تهیه میکروکپسول های پوسته و هسته شامل باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس روتری (جذب شده بر روی هسته) و پوشش دهی شده دو لایه با آلژینات سدیم 1 درصد (وزنی / حجمی) در لایه اول و کیتوزان 1 درصد (وزنی / حجمی) یا کلرید کلسیم 5 درصد (وزنی / حجمی) در لایه دوم برای تهیه نان سین بیوتیک ارائه می دهد که باکتری های ریزپوشانی شده، تمامی مراحل پخت در نان را طی کرده و نیازی به تزریق باکتری های زنده پس از پخت نمی باشد. با توجه به تعریف فرآورده های غذایی سین بیوتیک، (حضور بالاتر از 10^6

منابع

- زاغری، ل.، بصیری، ع.، رحیمی، س. و زنوزی، ع. بکارگیری لاکتوباسیلوس روتری در تهیه نان پروبیوتیک بخش 1: ارزیابی فرآیند ریزپوشانی به روش بسترشناور بر زنده ماندن لاکتوباسیلوس روتری در شرایط شبیه سازی شده معده. پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران. در دست چاپ.
- گنجوری، م.، محرابیان، ص. و اخوان سپهی، ع.، 1391، غنی سازی نان های حجیم با باسیلوس های بالقوه پروبیوتیک (باسیلوس کوآگولانس). مجله زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس، دوره 3، شماره 1، صفحه 38
- Anal, K. & Singh, H., 2007, Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*, 18: 240-251.
- Behzadi, S., Shengqian, W., Toe gel, S., Hofrichter, M., Altenburger, I., Unger, F., Wirth, M. & Viernstein, M., 2013, Impact of heat treatment and spray drying on cellular properties and culturability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12. *Food Research International*, 54: 93-101.
- Burgain, C., Gaiani, M., Linder, J. & Scher, M., 2011, Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial Applications. *Journal of Food Engineering*. 104: 467-483.
- Capela, P., 2006, Use of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation of bacterial cells in improving the viability of probiotic organisms in freeze-dried yoghurt. in School of Molecular Science. Victoria (Australia) University, 158.
- Chandramouli, V., Kailasapathy, K., Peiris, P. & Jones, M., 2004, An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus spp* in simulated gastric conditions. *Journal of Microbiological Methods*. 56: 27-35.
- Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibanez, F.C., Marzo, F. & Villaran, M.C., 2010, Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 142: 185-199.
- Cook, M.T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D. & Khutoryanskiy, V., 2011, Production and evaluation of dry alginate-chitosan microcapsules as an enteric delivery vehicle for probiotic bacteria. *Biomacromolecules*, 12: 2834-2840.
- Desai, K. G. H. & Park, H. J., 2005., Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23 (7): 1361-1394.
- Desmond, C., Ross, E., O'Callaghan, G. & Fitzgerald, C., 2002, Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 in spray-dried powders containing gum acacia. *J. Appl. Microbiol*, 93: 1003-1011.
- Ekbeck, J. & Hakanson, E., 2012, Thermostable lactobacillus strains. Patent, US8137952.
- Fareeza, b., Ismail, M., Siong Meng Lima, b., Rakesh, K., Mishra, c. & Kalavathy Ramasamy, b., 2015, Chitosan coated alginate-xanthan gum bead enhanced pH and thermotolerance of *Lactobacillus plantarum* LAB12. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72: 1419-1428.
- Fortoul, R. & Terrazas, A., 2012, Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical properties. *Food Hydrocolloids*, 29: 166-174.
- Kearney, N., Meng, X.C., Stanton, C., Kelly, J., Fitzgerald, G. F. & Ross, R., 2009, Development of a spray dried probiotic yoghurt containing *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. *International Dairy Journal*. 19(11): 684-689.
- Lima, C., Kruger, M., Destro, M. & Landgraf, M., 2009, Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp bulgaricus and *Streptococcus*. *Food Science and Technology*, 42: 491-494.
- Mandal, S., Puniya, A.K. & Singh, K., 2006, Effect of alginate concentration on survival of microencapsulated

- Lactobacillus casei*. *Int Dairy J*, 16: 1190–1195.
- Michael, T.& Vitaliy, V., 2010, Production and evaluation of alginate-chitosan microcapsules as an enteric delivery vehicle for probiotic bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 100:145-146.
- Min Kyeong, Cha., Myung Jun, Chung., Jin Eung Kim, Kang Oh Lee. & Nam Joo Ha.,2011, Comparison of Dual Coated (Duolac™) and Uncoated Lactic Acid Bacteria from Potential Probiotics. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 25:3, 2489-2493.
- Mosilhey, S.H., 2003, Influence of Different Capsule Materials on the Physiological Properties of Microencapsulated *Lactobacillus Acidophilus* This work has been done at the Department of Food Technology. University of Bonn, Germany.
- Phoem, N., Chanthachum, S.& oravuthikunchai, P., 2015, Preparation of Eleutherine americana-Alginate Complex Microcapsules and Application in *Bifidobacterium longum*. *Nutrients*. 7: 831-848.
- Qi, x., Jn, Y.& Liu, H., 2011, Microencapsulation of lactobasillus brevis and preliminary evaluation of their therapeutic effect on the diarrhoea of neonatal calf. *Journal of animal and veterinary advances*, 10(2): 151-156.
- Rosell, C., 2007, Vitamin and mineral fortification of bread. *Technology of functional cereal products*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd.
- Sabikhi, L., Babu, R., Thompkinson, D. K.& Kapila, S., 2010, Resistance of Microencapsulated *Lactobacillus acidophil* LA1 to Processing Treatments and Simulated Gut Conditions *Food. Bioprocess Technol*, 3: 586–593.
- Semyonov, D., Ramon, O., Kovacs, A., Friedlander, L.& Shimoni, E., 2014, Air-Suspension Fluidized-Bed Microencapsulation of Probiotics. *Drying Technology: An International Journal*. 30(16): 1918-1930.
- Solanki, H., Dipak, D., Dushyant, A., Vipul, D., Girish, K. & Akil, M., 2013, Development of Microencapsulation Delivery System for Long-Term Preservation of Probiotics as Biotherapeutics Agent. *BioMed Research International*, 620719, 21.
- Soukoulis, C., Yonkers, L., Gann, H., Behboudi-Jobbehdar, S., Parmenter, C.& Fisk, I., 2014, Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread. *Food Hydrocolloids*, 39: 231-242
- Talebzadeh, S., Sharifan, A., Ghiassi Tarzi, B.& Ezzat panah, H., 2014, Assessment the possibility of probiotic jelly production using microencapsulation technique of *Lactobacillus acidophilus* bacteria. *International Journal of Biosciences. IJB*, 5(1): 143-154.
- Zhou, Y., 1988, Spectrophotometric quantification of lactic bacteria in alginate and control of cell release with chitosan coating. *Journal of Applied Microbiology*, 84: 342-348.
- Zorea, Y.& penhasi, A., 2012, Heat resistant probiotic compositions and healthy food comprising them. EP, 2451300 A1.

Developing probiotic bread using *Lactobacillus reuteri* part 2: Evaluation of fluidized bed double microencapsulation on thermal stability of *Lactobacillus reuteri*

L. Zaghari¹, A. R. Bassiri^{2*}, S. Rahimi², A. Zonusi³

Received: 2016.06.19

Accepted: 2017.05.01

Introduction: Probiotic products have been used worldwide in the last decades. They are significantly gaining popularity and their consumption is associated with increasing levels of health-consciousness. Probiotics can be defined as microbial cells that have a beneficial effect on the health and wellbeing of the host. In this sense different probiotic products have appeared on the market with different formulations and applications. Bread is the major type of bakery products and a staple food in most part of the world. Despite attempts to develop functional breads containing viable microorganisms, this has not been fully developed yet because of the high temperature during baking process. Viability of probiotic bacteria in the product at the point of consumption is an important consideration for their efficacy, as they have to survive during the processing and shelf life of food. *Lactobacillus reuteri* which naturally occurs in the human intestine possess probiotic properties with good colonization potential. The main purpose of probiotic encapsulation is to protect cells against an unfavorable environment, include high processing temperatures and storage. The fluid bed encapsulation process consists of spraying a coating solution into a fluidized bed of solid particles. After several cycles of wetting-drying, a continuous film is formed. The main parameters affecting the process are flow-rate and pressure of the spraying liquid, composition and rheology of the coating solution, flow-rate and temperature of the fluidizing air. Double microencapsulation for probiotics by air-suspension fluidized-bed coating is a good alternative method to achieve greater resistance to high temperatures during bread baking. The aim of this study was to evaluate the survival of *Lactobacillus reuteri* that had been double layered using chitosan, calcium chloride and Arabic gum for microencapsulation and which had been exposed to bread baking conditions.

Materials and Methods: Pure freeze-dried *Lactobacillus reuteri* PT-1655 were obtained from Persian Type Culture Collection (Tehran, Iran) and were activated by inoculation in the MRS broth at 37°C for 36-48 h. The air-suspension process was performed in a Wurster coater system with a bottom spraying atomizer. In various pretests, the fluidization pressure, the atomization pressure and the spraying rate of the microencapsulation process were varied to examine their influence on process conditions, especially on the particle development. In this study, chitosan, calcium chloride and Arabic gum at concentrations (0.5, 1 and 1.5% w/v), 5% w/v and (1.5, 3 and 6% w/v) were used as second layer in double microencapsulation, respectively. Heat resistance of unencapsulated and double encapsulated microorganisms was determined by placing in an oven which was preheated to 80°C for 15 and 30 minutes. The prepared dough after adding of unencapsulated and double encapsulated bacteria was shaped into loaves of 50 g each, placed in aluminum pans, and baked in a preheated oven at 180°C for 20 min and 70 – 80% relative humidity and then cooled at room temperature. The temperature during baking process was checked by putting a thermocouple at the crumb center. The viability of bacteria at controlled conditions was measured after 1 and 24 h after baking process. Experimental data have been represented as the mean with standard deviation (SD) of different independent determinations. The significance of differences was evaluated by analysis of variance (ANOVA). Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results and Discussion: The Survival of encapsulated bacteria with chitosan and arabic gum at

1. Former M.Sc. Student of Food Science and Technology, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran
 2. Assistant Professor, Food Technology and processing Faculty, Department of Chemical Technologies, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran.
 3. Assistant Professor, Biosystems Engineering Faculty, Department of Agricultural research, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran
- (* - Corresponding Author Email: bassiri@irost.ir)

concentration of 1% and 6% w/v after heat treatment (80°C for 15 min) was 7.31% and 3.7% and after heat treatment (80°C for 30 min) was 0.63% and 0.31% respectively and was significantly higher in comparison to other samples and control. Study of effect of coating time (45 and 90 min) on cell viability (%) after heat treatment (80°C for 30 min) showed that encapsulated bacteria with 5% w/v calcium chloride for 90 min after heat treatment (80°C for 30 min) was 9% and was significantly higher compared to other samples. Longer coating time led to an increase of microcapsule diameter which results in lower heat transfer to the core and increased cell viability. Cell viability of encapsulated bacteria with 5% w/v calcium chloride in baked bread after 1 and 24h storage was 0.56% and 0.52% respectively and was significantly higher compared to sample encapsulated with 1% w/v chitosan 0.47% and 0.44% respectively. The final counts of viable cells in both samples after 1 and 24 h storage were higher than 10^6 CFU/g.

Keywords: *Lactobacillus reuteri*, doublemicroencapsulation, fluidized bed coater, thermal stability, probiotic bread.

تأثیر افزودن هیدروکلوئید زانتان در پوشش میگوی سوخاری وانامی (*Litopenaeus vannamei*) بر جذب روغن، شاخص‌های کیفیت غذایی و خصوصیات حسی

بتول عطار¹ - سیده زهرا سیدالنگی^{2*} - سارا جرجانی³

تاریخ دریافت: 1395/03/29

تاریخ پذیرش: 1396/02/30

چکیده

مطالعه حاضر به تأثیر افزودن هیدروکلوئید زانتان در پوشش خوراکی بر ترکیبات شیمیایی، میزان جذب لعاب، بازدهی محصول، شاخص‌های کیفیت غذایی (گروه‌های مهم اسیدهای چرب) و ویژگی‌های حسی میگوی سوخاری می‌پردازد. در این بررسی چهار تیمار شاهد (فاقد زانتان)، A (شامل 2 درصد زانتان در آرد اولیه)، B (شامل 2 درصد زانتان در لعاب) و C (شامل 1 درصد زانتان در آرد اولیه + 1 درصد زانتان در لعاب) استفاده شد. بر طبق نتایج ترکیبات شیمیایی، تیمارهای A و C به ترتیب کمترین میزان چربی و بیشترین حفظ رطوبت را به خود اختصاص دادند. پس از شاهد بیشترین میزان جذب لعاب مربوط به تیمار A بود. همچنین، بیشترین میزان بازده محصول پس از شاهد به تیمارهای A و B اختصاص داشت که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. بر اساس نتایج گروه‌های مهم اسید چرب SFA، MUFA:PUFA، $\omega-3/\omega-6$ ، MUFA+PUFA/SFA، PUFA/SFA و DHA/EPA بهترین نتیجه مربوط به تیمار C بود. همچنین، سایر تیمارها نیز در اغلب پارامترها در مقایسه با تیمار شاهد دارای برتری بودند. ارزیابی شاخص‌های تغذیه‌ای ($\sum h/H$ ، PI، AI و TI) از برتری تیمارهای آزمایشی به خصوص تیمار C در مقایسه با شاهد، دلالت داشت. در ارزیابی حسی نمونه‌ها، از نظر رنگ، بو، مزه، بافت، ظاهر و پذیرش کلی بین تیمارها تفاوتی مشاهده نشد. لذا با توجه به دستاوردهای مطالعه حاضر می‌توان تیمار C را به‌عنوان تیمار برگزیده از حیث حفظ کیفیت میگوی سوخاری معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: میگوی سوخاری، زانتان، ترکیبات شیمیایی، جذب روغن، شاخص‌های کیفیت غذایی

مقدمه

زیاد منجر به افزایش هزینه تولیدکنندگان و نیز باعث تولید محصولی روغنی و بی مزه می‌شود (Moreira et al., 1999). امروزه مصرف‌کنندگان به دنبال محصولات غذایی با محتوای روغن کمتر می‌باشند. این امر منجر شده است بسیاری از کارهای تحقیقاتی به سمت کاهش محتوای روغن محصولات نهایی جهت‌گیری نمایند (Pawar et al., 2014).

یک محصول غذایی پوشش داده شده در اصل، محصولی است که توسط مواد غذایی دیگر پوشش داده می‌شود. پوشش دادن با لعاب و سوخاری کردن، موجب بهبود ویژگی‌های محصولات غذایی مانند ظاهر، طعم و بافت می‌شود. این فرآیند موجب حفظ عصاره طبیعی غذاها از اثرات ناشی از منجمد کردن یا گرم کردن مجدد شده و در نتیجه باعث تولید یک محصول نهایی مطمئن و سالم‌تر می‌شود. به‌طوریکه داخل محصول آبدار و در عین حال قسمت بیرونی محصول ترد می‌باشد. هیدروکلوئیدها یا صمغ‌ها مجموعه گسترده و متنوعی از پلیمرهایی با زنجیره طولانی هستند که هنگام حل شدن در آب تشکیل دیسپرسیون‌های ویسکوز یا ژل می‌دهند. استفاده از پوشش‌های هیدروکلوئیدی به دلیل خاصیت ممانعت‌کنندگی این

مصرف غذاهای لعاب‌زده و سوخاری شده، به‌ویژه غذاهای دریایی، مرغ، پنیر و سبزیجات، در طی چند سال اخیر بسیار گسترش یافته است (Dogan et al., 2005). میگوی سوخاری یکی از انواع محصولات میگو است که به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالای آن، ظاهر جذاب، طعم یکنواخت و سهولت استفاده به‌ویژه در کشورهای توسعه یافته، به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (Kan pan et al., 2013). محتوای روغن، یکی از خصوصیات مهم کیفی غذاهای سرخ شده به روش عمیق می‌باشد. بافت محصول دارای محتوای روغن کم، ممکن است سخت و نامطلوب باشد. با این وجود محتوای روغن

1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر.

2- دانشیار، گروه شیمی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر.

3- استادیار، گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر.

* - نویسنده مسئول: (Email: zalangi@gmail.com)

DOI: 10.22067/ifstrj.v1396i0.56879

در کاهش جذب روغن محصولات سرخ کردنی با استفاده از پوشش‌های هیدروکلوئیدی مورد بررسی قرار نگرفته است. در این تحقیق سعی شده است تأثیر افزودن هیدروکلوئید زانتان در ترکیب آرد اولیه و لعاب بر ترکیبات شیمیایی، میزان جذب لعاب، بازدهی محصول، شاخص‌های کیفیت غذایی (گروه‌های مهم اسیدهای چرب) و ویژگی‌های حسی میگوی سوخاری شده مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) با میانگین وزنی 5 گرم از مزرعه پرورش میگو واقع در حوالی شهرگمیشان - استان گلستان (مهر 1393) به‌صورت تازه خریداری شده و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شد. پس از پوست‌کنی و شستشو تا زمان شروع آزمایش در دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی نمونه: برای تهیه میگوی سوخاری، میگوهای منجمد دو ساعت قبل از استفاده، از فریزر خارج کرده و جهت انجمادزایی در دمای محیط قرار گرفت. سپس میگوها به‌صورت دستی، تمیز و شسته شدند. در مرحله آردزنی اولیه از آرد گندم استفاده شد. فرمول لعاب طبق فرمول Fiszman و Salvador (2003)، شامل 75 درصد آرد گندم، 24/5 درصد آرد ذرت و 0/5 درصد نمک، تهیه گردید. مواد خشک و آب به نسبت 1/4 و به مدت 3 دقیقه توسط دستگاه همزن خانگی (Kenwood-BL460) با یکدیگر مخلوط شدند. برای تهیه میگوی سوخاری، در هر تیمار نمونه‌ها ابتدا آردزنی اولیه و سپس لعاب زنی شدند. پس از چکیدن لعاب اضافی به مدت 30 ثانیه، در پایان توسط پودر سوخاری (گلها، ایران) پوشانده شدند. پس از کامل شدن روکش، نمونه‌ها، به مدت 30 ثانیه در سرخ کن (Fritaurus Professional 3 domestic fryer, Barcelona, Spain) در روغن با دمای 190 درجه سانتی‌گراد، به روش سرخ کردن عمیق سرخ شدند تا محصول شکل خود را حفظ نماید. به‌منظور چکیدن روغن اضافی، نمونه‌ها به مدت 2 دقیقه به‌صورت معلق نگه داشته شدند و پس از خنک شدن نمونه‌ها در دمای محیط (30 دقیقه)، تکرارهای هر تیمار جداگانه درون بسته‌های زیپ کیپ بسته‌بندی شده و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از سرخ کردن تکرار هر تیمار، روغن تعویض و ظرف درونی سرخ کن برای سرخ کردن تکرار بعدی شسته و به‌طور کامل خشک شدند. هر یک از آزمایشات در 3 تکرار انجام شد.

چهار تیمار طراحی شده به‌صورت زیر می‌باشند:

تیمار شاهد: در تهیه این تیمار از هیدروکلوئید زانتان استفاده

پوشش‌ها نسبت به چربی باعث کاهش میزان جذب روغن در محصول می‌شوند. کاربرد انواع مختلفی از پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی در غذاهای سرخ شده گزارش شده است مانند: زانتان، ژلاتین، صمغ ژلان، مخلوط کاپاکاراگینان - کنجاک، صمغ دانه خرنوب، سلولز میکرو کریستالین، پکتین، ایزوله پروتئین سویا، گلو تن گندم، ایزوله پروتئین‌های وی، متیل سلولز و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز، سدیم کازینات (Usawakesmanee et al., 2005). صمغ زانتان یک پلی‌ساکارید طبیعی خارج سلولی و یک بیوپلیمر صنعتی مهم است که از باکتری *Zanthomonas campestris*¹ از طریق تخمیر هوازی بدست می‌آید. ویژگی‌های منحصر به فرد شامل حالیت در آب سرد و گرم، ایجاد محلول‌های بسیار ویسکوز با غلظت کم و خواص شبه پلاستیک آن است که منجر به کاربرد بسیار وسیع این صمغ به‌عنوان عامل سوسپانسیون‌کننده، تثبیت‌کننده، تغلیظ‌کننده به ویژه در صنایع غذایی گردیده است (Katzbauer, 1998).

Kan Pan و همکاران (2013) تأثیر ایزوله پروتئین سویا² افزوده شده به لعاب بر پایه آرد گندم، بر روی کیفیت میگوهای سوخاری سرخ شده به روش عمیق را بررسی کردند. ایزوله پروتئین سویا افزوده شده به لعاب منجر به افزایش میزان جذب لعاب، تردی بافت و کاهش میزان جذب روغن در طی سرخ کردن میگوی سوخاری گردید. Asmita و Uday (2012) اثر صمغ‌های کربوکسی‌متیل‌سلولز و هیدروکسی پروپیل‌متیل‌سلولز در نخود و ماش به‌منظور ارزیابی حفظ رطوبت و کاهش در جذب روغن مورد بررسی قرار دادند. ربوکسی‌متیل‌سلولز در مقایسه با هیدروکسی پروپیل‌متیل‌سلولز در هر دو نمونه باعث جذب روغن کمتر شد. Garcia و همکاران (2004) استفاده از متیل سلولز در کاهش جذب روغن در محصولات سرخ شده از جمله خلال‌های سیب زمینی و خمیرهای قرصی شکل را مورد بررسی قرار دارند. موثرترین فرمول پوششی بسته به نوع فرآورده، جذب روغن را حدود 35-40 درصد کاهش داد. Akdeniz و همکاران (2004) تأثیر افزودن هیدروکسی پروپیل‌متیل‌سلولز، گوار، زانتان و گوار - زانتان به فرمولاسیون پوشش، در کیفیت قطعات سرخ شده هویج را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد افزودن هیدروکلوئیدها باعث کاهش جذب روغن می‌شود. گل محمدی و خادمی (2016) اثر پوشش فعال خوراکی بر پایه زانتان بر آلودگی میکروبی فیله مرغ طی دوره نگهداری در شرایط سرد را مورد بررسی قرار دادند. همچنین، فرج زاده و همکاران (2013) تأثیر زانتان و گوار را بر کاهش مقدار جذب روغن را همبرگرهای سرخ شده مورد ارزیابی قرار دادند.

تاکنون شاخص‌های مهم کیفیت غذایی در تحقیقات انجام شده

1 *Xanthomonas Compestris*
2 Soy Protein Isolated

استفاده گردید (ASMT, 1969) و شاخص‌های رنگ، بو، مزه، بافت، ظاهر و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفتند. به این منظور 12 نفر دانشجوی به صورت کاملاً تصادفی انتخاب گردیدند. جداول مورد نظر جهت امتیازدهی در اختیار آنان قرار داده شد و در طی یک جلسه جداول و نحوه تکمیل آنها برای ارزیابان توضیح داده شد. ارزیابان به شاخص‌های رنگ، بو، مزه، بافت، ظاهر و پذیرش کلی بر اساس جداول از 5 تا 1 امتیاز دادند (5= بسیار خوب، 4= خوب، 3= متوسط، 2= بد، 1= غیر قابل مصرف). به ارزیابان تذکر داده شد که قبل از جلسه ارزیابی، نوشابه و دیگر خوراکی‌های طعم‌دار مانند آدامس مصرف نکنند و دست‌ها و دهان خود را بشویند. برای جلوگیری از تداخل طعم در زمان ارزیابی، ارزیابان قبل از هر آزمایش چشائی، دهان خود را با آب شستشو دادند (شعبان‌پور و همکاران، 2013).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل آماری، پس از جمع‌آوری داده‌ها و وارد کردن آنها در نرم‌افزار آماری Excel و انجام پردازش‌های لازم، برای مقایسه میانگین از روش دانکن و به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one way) استفاده شد. همچنین به منظور بررسی اثر تیمارها بر خصوصیات حسی نمونه‌ها از آزمون کوروسکال والیس و آزمون من ویتنی یو برای پیدا نمودن اختلاف معنی‌دار در بین نتایج حاصل از آزمون‌های حسی تیمارهای مورد آزمایش استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج ترکیبات شیمیایی در میگوی سوخاری شاهد و تیمار بندی شده با صمغ زانتان

میزان رطوبت

یافته‌های مربوط به میزان رطوبت در میگوی سوخاری شاهد و تیمار بندی شده با زانتان در جدول 1 نشان داده شده است. محتوای رطوبت کلیه تیمارهای آزمایشی حاوی هیدروکلونید زانتان در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P \leq 0/05$). اما بین تیمارهای مختلف حاوی زانتان اختلاف معنی‌دار از نظر میزان رطوبت وجود نداشت. بیشترین میزان رطوبت مربوط به تیمار C ($28/64 \pm 0/24$) و همچنین کمترین مقدار آن مربوط به نمونه شاهد ($25/42 \pm 0/68$) بود. بنابراین، تیمارهای حاوی صمغ زانتان در حفظ میزان رطوبت میگوی سوخاری در مقایسه با شاهد (فاقد زانتان) موثرتر عمل نمودند. طی فرآیند سرخ کردن، افزایش دمای داخلی غذا باعث تبخیر رطوبت و تشکیل منافذی در پوسته می‌شود و با نفوذ روغن به درون این منافذ مقدار روغن محصول افزایش و مقدار رطوبت کاهش می‌یابد (Chen et al., 2009). در صورتی که ظرفیت نگهداری آب بالا باشد

تیمار A: 2 درصد هیدروکلونید زانتان در آرد اولیه
 تیمار B: 2 درصد هیدروکلونید زانتان در مخلوط لعاب
 تیمار C: 1 درصد زانتان در آرد اولیه + 1 درصد زانتان در مخلوط لعاب (چرجانی و عوض خواجه، 1394؛ جمشیدی و شعبان‌پور، 2013).

اندازه‌گیری خصوصیات شیمیایی: اندازه‌گیری رطوبت بر اساس استاندارد AOAC (2000) و چربی از طریق روش سوکسله (AOAC, 2000) انجام گرفتند.

تعیین میزان جذب لعاب: برای اندازه‌گیری جذب لعاب قبل از سرخ کردن، از روش Chen و همکاران (2009) و از طریق فرمول زیر استفاده شد:

$$(1) \quad 100 \times \frac{\text{وزن میگوی بدون پوشش} - \text{وزن میگوی پوشش‌دار}}{\text{وزن میگوی پوشش‌دار}} = \text{درصد جذب لعاب}$$

تعیین میزان بازدهی محصول: بازدهی محصول به روش Das و همکاران (2008) و از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

$$(2) \quad 100 \times \frac{\text{وزن میگو سرخ شده}}{\text{وزن میگو خام}} = \text{بازدهی محصول}$$

اندازه‌گیری ترکیب اسیدهای چرب: برای این آزمون ابتدا چربی نمونه‌های مورد نظر را به روش Folch و همکاران (1957) استخراج کرده و سپس از روش گاز کروماتوگرافی پروفایل اسیدهای چرب تعیین می‌گردد. دستگاه کروماتوگراف گازی (Unicam-4600) با دکتور FID برای این منظور استفاده شد. ستون مورد استفاده از نوع (30 mm × 0.25 mm) و Film Tekness-0.22 μl بوده است. برنامه دمایی آون دستگاه کروماتوگراف گازی بدین صورت بود: دمای ابتدایی آون 160 درجه سانتی‌گراد بوده که به مدت 6 دقیقه در این دما باقی ماند. سپس دمای آون با سرعت 20 درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافته و به مدت 9 دقیقه در این دما باقی ماند. در نهایت دمای آون دوباره با سرعت 20 درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافته و به 200 درجه سانتی‌گراد رسیده و تا پایان در این دما باقی ماند. دمای دستگاه دکتور 280 درجه سانتی‌گراد بود. گاز هلیوم به عنوان گاز حامل استفاده شد. از مقایسه زمان بازداری کروماتوگرام‌های نمونه مجهول با کروماتوگرام‌های به دست آمده در محلول استاندارد اسیدهای چرب متیل استر، اسیدهای چرب موجود روغن میگو شناسایی شد. مقادیر اسیدهای چرب به صورت درصد زیر پیک از کل بیان شد (Çelik et al., 2005).

ارزیابی حسی: جهت ارزیابی حسی از روش هدونیک نقطه‌ای

بیشتر از شاهد گزارش نمود که با یافته‌های مطالعه حاضر منطبق می‌باشد. Hong-wu و همکاران (2014) اثر مثبت معنی‌دار استفاده از ایزوله پروتئین سویا افزوده شده به لعاب میگوهای سوخاری سرخ شده بر کاهش از دست رفتن رطوبت محصول را گزارش نمودند که از حیث تاثیرگذاری با یافته‌های مطالعه حاضر هم راستا می‌باشد. جمشیدی و همکاران (1391) تأثیر افزودن هیدروکلئیدهای زانتان، آلزینات و کربوکسی‌متیل سلولز در پوشش خوراکی، بر حفظ میزان رطوبت فینگر ماهی را گزارش دادند که با نتایج مطالعه حاضر هم راستا می‌باشد.

حفظ رطوبت بیشتر و میزان چربی کمتری در خلال سرخ کردن توسط ماده غذایی جذب خواهد شد (جمشیدی و همکاران، 1391). بنابراین، خاصیت هیدروکلئیدی همچون زانتان در نگهداری آب ناشی از ایجاد پیوند هیدروژنی و توانایی تشکیل ژل همراه با طبیعت هیدروفیلیک در جلوگیری از کاهش رطوبت که آنها را قادر به جذب کمتر روغن در طی سرخ کردن می‌کند، حائز اهمیت بسیاری می‌باشد (Venugopal, 2006). عوض خواجه و جرجانی (1394) میزان رطوبت در تیمارهای حاوی 2 درصد هیدروکلئید HPMC در آرد اولیه میگو سوخاری و 2 درصد HPMC در لعاب میگو سوخاری را

جدول 1- نتایج میزان رطوبت، چربی کل، جذب لعاب و بازده محصول در میگوی سوخاری شاهد و تیمار بندی شده با هیدروکلئید زانتان

تیمار	شاهد	A (2 درصد زانتان در آرد)	B (2 درصد زانتان در لعاب)	C (1 درصد زانتان در آرد + 1 درصد زانتان در لعاب)
رطوبت	25/42±0/68 ^b	27/75±0/45 ^a	27/89±0/45 ^a	28/64±0/24 ^a
چربی کل	16/94±0/37 ^b	12/31±0/36 ^c	20/42±0/78 ^b	17/68±0/5 ^b
جذب لعاب	41/03±0/13 ^a	37/53±1/19 ^b	32/66±2/19 ^c	31/22±1/02 ^c
بازده محصول	166/25±2/26 ^a	156/91±3/31 ^b	151/42±6/28 ^{b,c}	143/59±4/87 ^c

حروف مشترک در هر ردیف بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد.

مورد استفاده در این تیمارها زیاد بوده و به دلیل ایجاد پیوند هیدروژنی قوی زانتان با آب موجود در لعاب کمی باعث تشکیل فیلم و ژلاتیناسیون غیریکنواخت در سطح میگو شده (کمی حالت کلوخه‌ای ایجاد نموده) و در حین سرخ شدن عمیق نتوانستند به‌طور موفق از ورود روغن جلوگیری نماید. بنابراین، بهتر است در این نوع تیمارها از دوز کمتر زانتان استفاده گردد. Akdeniz و همکاران (2004) تأثیر افزودن هیدروکسی‌پروپیل متیل سلولز، گوار، زانتان و گوار - زانتان به فرمولاسیون پوشش، در کیفیت قطعات سرخ شده هویج را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد افزودن هیدروکلئیدها باعث کاهش جذب روغن گردید. شعبان پور و جمشیدی (1392) پایین‌تر بودن میزان چربی ناگت‌های ماهی قزل‌آلا در تیمارهای حاوی هیدروکلئیدهای آلزینات و هیدروکسی‌پروپیل متیل سلولز در آرد در مقایسه با شاهد را گزارش دادند. همچنین، Pawar و همکاران (2014) از هیدروکلئیدهای HPMC، CMC و زانتان در آرد اولیه در تهیه کچوری استفاده کردند. آنها کاهش جذب روغن در تیمارهای حاوی این هیدروکلئیدها را در مقایسه با تیمار شاهد گزارش نمودند.

جذب لعاب

یافته‌های مربوط به جذب لعاب در میگوی سوخاری شاهد و تیمار بندی شده توسط زانتان در جدول 1 نشان داده شده است. نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد ($P \leq 0/05$). به‌طوریکه بیشترین میزان جذب لعاب به نمونه شاهد (41/03±0/13)

چربی

نتایج مربوط به میزان چربی در میگوی سوخاری، بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در مقدار چربی بین تیمارهای مختلف می‌باشد ($P \leq 0/05$) (جدول 1). بطوریکه کمترین میزان چربی مربوط به تیمار A (12/31±0/36) و سپس به‌ترتیب در نمونه شاهد (16/94±0/37) و تیمار C (17/68±0/5) مشاهده شد. بیشترین میزان چربی مربوط به تیمار B (20/42±0/78) بود. بر اساس یافته‌ها، حضور هیدروکلئید زانتان در آرد اولیه توانسته در کاهش جذب روغن موفق عمل نماید. از آنجا که بیشترین میزان جذب چربی در طی سرخ نمودن محصولات لعاب‌دهی و سوخاری شده، در روکش به وقوع می‌پیوندد (Chen et al., 2009)، بنابراین، قوام و اثر سدکنندگی روکش خوراکی از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. هرچه آردزنی اولیه و لعاب بتواند پوشش یکنواخت‌تر و ممانعت بیشتری در مقابل خروج رطوبت ایجاد کنند، چربی کمتری پس از سرخ شدن جذب محصول می‌شود. افزودن 2 درصد هیدروکلئید زانتان در آرد اولیه (تیمار A) به دلیل حفظ رطوبت مناسب از طریق اتصال پیوندهای هیدروژنی توانسته است حداکثر مقاومت و استحکام را در جلوگیری از جذب روغن در مقایسه با سایر تیمارها از خود به نمایش بگذارد (جمشیدی و همکاران، 1391). تیمارهای B و C که به‌ترتیب حاوی 2 درصد صمغ زانتان در لعاب و 1 درصد زانتان در آرد + 1 درصد زانتان در آرد + 1 درصد زانتان در لعاب، عکس آن چیزی که انتظار می‌رفت نتوانسته‌اند خاصیت سدکنندگی قابل قبولی در برابر ورود روغن به محصول از خود نشان دهند. احتمالاً دوز زانتان

کمتر در تیمار C ورود روغن را افزایش و بالعکس جذب لعاب و بازده محصول بیشتر در تیمارهای شاهد و A ورود روغن در آنها را کاهش داده است. نتایج مطالعه حاضر در موافقت با نتایج جمشیدی و همکاران (1391) می باشد.

نتایج گروه‌های مهم اسیدهای چرب در میگوی سوخاری شاهد و تیمار بندی شده با صمغ زانتان

ترکیبات اسیدهای چرب موجود در غذاهای دریایی از فاکتورهای مهم تغذیه‌ای این دسته از مواد غذایی می باشد. به منظور ارزیابی اثر افزودن صمغ زانتان در پوشش خوراکی بر گروه‌های مهم اسید چرب میگوی سوخاری؛ مولفه‌های مهم مربوطه طبق جدول 2 مورد سنجش قرار گرفت. همچنین، پروفایل اسید چرب روغن آفتابگردان در جدول 3 آمده است.

یافته‌های حاصل از میزان $\sum SFA$ حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می باشد ($p \leq 0/05$). به طوری که بیشترین میزان $\sum SFA$ مربوط به شاهد ($27/53 \pm 0/06$) و کمترین میزان نیز به تیمار C ($13/76 \pm 0/04$) اختصاص یافته است (جدول 2). بین تیمارهای A ($26/27 \pm 0/09$)، B ($26/33 \pm 0/1$) و شاهد هیچ گونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشته ($p > 0/05$) و همین طور بین تیمار C و سایر تیمارها نیز اختلافات موجود معنی‌دار می باشد ($p \leq 0/05$). میزان SFA برای تعیین کیفیت تغذیه‌ای لیبید در غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند (Miranda et al., 2010). مصرف محصولات غذایی با SFA پایین برای سلامتی انسان مفیدتر می باشد (Venugopal, 2006). بنابراین، افزودن صمغ زانتان در سطح 1 درصد در آرد و لعاب موجب کاهش میزان SFA و بهبود محصول از نظر شاخص تغذیه‌ای گردیده است. حسینی و همکاران (2014) اثر روش‌های پخت مختلف را بر ارزش تغذیه‌ای ماهی سفید مورد بررسی قرار دادند. آنها دریافتند پختن فیله ماهی سفید موجب کاهش مقدار SFA نسبت به فیله خام می‌گردد که روند تغییرات با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

نتایج $\sum MUFA$ بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می باشد ($p \leq 0/05$). بر اساس آن بیشترین میزان $\sum MUFA$ به تیمار A ($35/3 \pm 0/28$) و کمترین میزان نیز به تیمار C ($25/14 \pm 0/09$) اختصاص یافته است (جدول 2). بین تیمارهای B ($34/99 \pm 0/67$) و شاهد ($35/05 \pm 0/06$) با تیمار A با وجود اختلاف ناچیز در میزان $\sum MUFA$ ، هیچ گونه تفاوت معنی‌داری بین تیمارها دیده نمی‌شود ($p > 0/05$) و همچنین در نهایت تیمار C نیز با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار می باشد.

یافته‌ها PUFA حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می باشد ($p \leq 0/05$). به طوری که بیشترین میزان PUFA مربوط به تیمار C ($60/61 \pm 0/58$) و کمترین میزان نیز به شاهد ($37/41 \pm 0/7$)

مربوط بوده و دارای اختلاف معنی‌دار با تیمارهای آزمایشی می باشد. همچنین، کمترین میزان نیز به تیمار C ($31/22 \pm 1/02$) اختصاص یافته است. پس از شاهد بیشترین میزان جذب لعاب به ترتیب به تیمارهای A ($37/53 \pm 1/19$) و B ($32/66 \pm 2/19$) مربوط می‌شود که در این بین اختلاف بین تیمار A با تیمارهای B و C معنی‌دار بوده ($p \leq 0/05$) و همچنین بین تیمارهای B و C نیز هیچ گونه تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. این امر را می‌توان به حضور آب در فرمول لعاب، عدم حضور آب در آردزنی اولیه و ماهیت درونی زانتان در ایجاد پیوند هیدروژنی و قوام‌دهندگی آن نسبت داد (Kan Pan et al., 2013). دوز 2 درصد در لعاب (تیمار B) و یک درصد در لعاب (تیمار C) در پوشش میگو باعث تشکیل فیلم و ژلاتیناسیون غیر یکنواخت در سطح میگو شده (کمی حالت کلوخه‌ای) گردید. بنابراین، میزان جذب لعاب کاهش و منجر به ورود بیشتر روغن به محصول شد (جدول 1). از آنجائیکه میزان جذب لعاب می‌تواند بر روی بازدهی محصول و کیفیت محصول نهایی تاثیرگذار باشد (Albert et al., 2009)، به منظور رفع این مشکل پیشنهاد می‌گردد از دوزهای پایین‌تر زانتان در فرمولاسیون لعاب (0/5 درصد) استفاده شود. Albert و همکاران (2009) گزارش نمودند استفاده از صمغ‌های مختلف نشاسته اکسیدشده، زانتان و هیدروکسی‌متیل‌پروپیل سلولز در ترکیب با آرد اولیه، در مقایسه با تیمارهای شاهد، موجب کاهش جذب لعاب می‌گردد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

بازده محصول

نتایج مربوط به بازده محصول در میگوهای سوخاری شاهد و تیمار بندی شده با زانتان در جدول 1 آمده است. بیشترین و کمترین میزان بازده محصول به ترتیب به تیمارهای شاهد ($166/25 \pm 2/26$) و C ($143/59 \pm 4/87$) اختصاص یافته است. تیمارهای A ($156/91 \pm 3/31$) و B ($151/42 \pm 6/28$) به ترتیب پس از شاهد بیشترین میزان بازده محصول را به خود اختصاص داده‌اند که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. در این بین، تیمار B با تیمار C نیز تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود. بازده محصول یکی از فاکتورهای مهم در محصولات لعاب‌دهی و سوخاری شده می باشد که با کمیت نهایی آنها ارتباط مستقیم دارد (جمشیدی و همکاران، 1391). زمانی که تیمارها ظرفیت اتصال آب یکسانی داشته باشند، طی مراحل سرخ کردن، در میزان بازده محصول تفاوت چندانی حاصل نمی‌شود (Das et al., 2008). بنابراین، این نتایج حاکی از این است که ظرفیت اتصال آب بین تیمارهای A و B و تیمارهای B و C یکسان و در نتیجه بازده محصول برابر می باشد، اما با تیمار شاهد دارای تفاوت ظرفیت اتصال آب می‌باشند. نتایج جذب لعاب و بازده محصول با میزان ورود روغن در تیمارها همخوانی دارد (جدول 1). جذب لعاب و بازده محصول

تیمار A ($1/33 \pm 0/19$) مربوط می‌شود. بین تیمارهای A، B، و C هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشته ($p > 0/05$) و همچنین تیمار C نیز با کلیه تیمارها دارای تفاوت معنی دار می‌باشد ($p \leq 0/05$) (جدول 2). یک رژیم غذایی مطلوب حاوی 1:3 SFA، 3:1 MUFA، 1:3 PUFA می‌باشد. هنگامی که این نسبت‌ها در یک غذای ایده آل رعایت می‌شود، در میزان مصرف روزانه لیپید، نسبت PUFA/SFA برابر شده و محتوای PUFA، 10 درصد کل انرژی جذبی را فراهم می‌آورد (Roman, 2003). حداقل میزان توصیه شده PUFA/SFA برابر 0/45 می‌باشد (HMSO, 1994). بنابراین، تمامی تیمارها بیشتر از حداقل میزان توصیه شده نسبت PUFA/SFA را دارا می‌باشند و بهترین آن متعلق به تیمار C می‌باشد.

اختصاص یافته است (جدول 2). با وجود بیشتر بودن مقدار PUFA در تیمارهای A ($38/1 \pm 0/26$) و B ($38/98 \pm 0/41$) در مقایسه با شاهد؛ اما هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای مذکور وجود نداشته و تیمار C نیز با کلیه تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($p \leq 0/05$). پایین‌تر بودن میزان SFA و اثر مثبت بیشتر بودن میزان PUFA در پیشگیری از مشکلات قلبی و عروقی توسط بسیاری از محققان مورد گزارش قرار گرفته است (FAO, 2006). با توجه به نتایج، تیمار C (1 درصد زانتان در آرد + 1 درصد زانتان در لعاب) مقایسه با سایر تیمارها مقدار SFA کمتر و PUFA بیشتری را دارد. نتایج PUFA/SFA حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد ($p \leq 0/05$). به‌طوری که بیشترین میزان PUFA/SFA به تیمار C ($4/59 \pm 0/34$) و کمترین میزان نیز به

جدول 2- نتایج گروه های مهم اسیدهای چرب در میگوهای وانامی سوخاری شاهد و تیمار شده با زانتان (گرم در 100 گرم چربی)

اسیدهای چرب	شاهد (فاقد صمغ زانتان)	A (2 درصد زانتان در آرد)	B (2 درصد زانتان در لعاب)	C (1 درصد زانتان در آرد + 1 درصد زانتان در لعاب)
ΣSFA	27/53±0/06 ^a	26/27±0/09 ^a	26/33±0/1 ^a	13/76±0/04 ^b
MUFAΣ	35/05±0/06 ^a	35/3±0/28 ^a	34/99±0/67 ^a	25/14±0/09 ^b
ΣPUFA	37/41±0/7 ^b	38/1±0/26 ^b	38/98±0/41 ^b	60/61±0/58 ^a
PUFA/SFA	1/35±0/08 ^b	1/33±0/19 ^b	1/47±0/02 ^b	4/59±0/34 ^a
MUFA+PUFA/SFA	2/56±0/05 ^b	2/8±0/03 ^b	2/79±0/04 ^b	6/22±0/05 ^a
ω-3/ω-6	0/044±0/001 ^c	0/047±0/002 ^b	0/043±0/001 ^c	0/05±0/001 ^a
EPA+DHA	0/96±0/002 ^d	1/12±0/02 ^b	1/00±0/03 ^c	1/34±0 ^a
DHA/EPA	0/79±0/01 ^b	0/8±0/005 ^b	0/80±0/01 ^b	0/83±0/004 ^a
Σh/H	3/4±0/07 ^b	3/63±0/09 ^b	3/60±0/07 ^b	10/97±0/07 ^a
PI	44/87±0/12 ^b	46/48±0/4 ^b	46/6±0/41 ^b	70/79±1/16 ^a
AI	0/312±0/003 ^a	0/285±0/007 ^b	0/271±0/004 ^b	0/092±0/001 ^c
TI	0/194±0/004 ^a	0/184±0/002 ^a	0/18±0/002 ^a	0/064±0/001 ^b

میانگین ± انحراف معیار. حروف مشترک در هر ردیف بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد.

جدول 3- پروفایل اسیدهای چرب روغن آفتابگردان (گرم در 100 گرم چربی)

اسید چرب	0:14C	16C	17C	18C	20C	24C	16C	18C	18C	18C	20C	20C
	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	4	6
	0	0	0	0	0	0	9	9	6	6	6	6
	0/07	7/13	0/04	4/37	0/26	0/27	0/05	28/20	0/27	61/17	0/23	0/16
گرم در 100 گرم چربی	0/07	7/13	0/04	4/37	0/26	0/27	0/05	28/20	0/27	61/17	0/23	0/16

نتایج به‌دست آمده از میزان MUFA+PUFA/SFA حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد ($p \leq 0/05$). به‌طوری که بیشترین میزان MUFA+PUFA/SFA در تیمار C ($6/22 \pm 0/05$) دیده شد و با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد. کمترین میزان نیز به شاهد ($2/56 \pm 0/05$) اختصاص یافته است (جدول 2). به دلیل وجود اختلاف ناچیز در بین تیمارهای B

تیمار A ($2/79 \pm 0/04$) و A ($2/8 \pm 0/03$) با شاهد، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای نام برده مشاهده نمی‌شود ($p > 0/05$). یافته‌های $\omega-3/\omega-6$ حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد ($p \leq 0/05$). به‌طوری که بیشترین میزان $\omega-3/\omega-6$ به تیمار C ($0/05 \pm 0/001$) و کمترین میزان آن نیز به تیمار B ($0/043 \pm 0/001$) مربوط می‌شود (جدول 2). پس از تیمار C بیشترین

میزان به ترتیب مربوط به تیمار A ($0/047 \pm 0/002$) و شاهد ($0/044 \pm 0/001$) می باشد. اسیدهای چرب غیراشباع ω -3 و ω -6 تحت تاثیر آنزیم های مشابه قرار می گیرند، از این رو بین این دو گروه در بدن در استفاده آنزیم از آنها رقابت وجود دارد. هر گروه از اسیدهای چرب اثر متفاوتی بر سلامت انسان دارند، بنابراین یک نسبت مناسب از هر دوی آنها ضروری است. جذب ω -6 منجر به افزایش خطر بیماری های قلبی عروقی می شود در حالیکه جذب ω -3 اثر بازدارندگی دارد (Winjendran *et al.*, 2004). هرچه مقدار این نسبت بیشتر باشد مطلوبتر می باشد. لذا بر اساس نتایج، استفاده از 1% زانتان در آرد و لعاب (تیمار C) در مقایسه با سایر تیمارها حائز برتری می باشد.

طبق نتایج به دست آمده، بیشترین میزان Σ EPA+DHA مربوط به تیمار C ($1/34 \pm 0$) و کمترین میزان به تیمار شاهد ($0/96 \pm 0/002$) اختصاص یافته است (جدول 2). بیشترین میزان Σ EPA+DHA پس از تیمار C به ترتیب مربوط به تیمار A ($1/12 \pm 0/02$) و B ($1 \pm 0/03$) می باشد و بین کلیه تیمارها اختلافات موجود معنی دار می باشد ($p \leq 0/05$). اسیدهای چرب EPA و DHA به عنوان 2 اسید چرب بسیار برجسته به شمار می آیند که آثار مطلوب آنها در کاهش عوارض ناشی از بیماری های قلبی و عروقی، رشد و عملکرد سیستم عصبی (مغز)، بینایی و تولید مثلی همواره مورد تاکید می باشد (پیرستانی و همکاران، 2010; Simopoulos, 2008). بر این اساس، کلیه تیمارهای آزمایشی حاوی صمغ زانتان به ویژه تیمار C در حفظ مقادیر این دو اسید چرب عملکرد بهتری در قیاس با شاهد داشتند.

نتایج به دست آمده از میزان DHA/EPA بیانگر وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارها می باشد ($p \leq 0/05$) به طوری که بیشترین میزان DHA/EPA مربوط به تیمار C بوده ($0/83 \pm 0/004$) که با کلیه تیمارهای موجود دارای اختلاف معنی دار می باشد. کمترین میزان نیز به شاهد ($0/79 \pm 0/01$) اختصاص یافته است.

یافته های $\Sigma h/\Sigma H$ حاکی از وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارها می باشد ($p \leq 0/05$). بر اساس آن بیشترین میزان $\Sigma h/\Sigma H$ مربوط به تیمار C ($10/97 \pm 0/07$) و کمترین میزان $\Sigma h/\Sigma H$ نیز به شاهد ($3/4 \pm 0/07$) اختصاص یافته است (جدول 2). میزان $\Sigma h/\Sigma H$ در تیمارهای A ($3/63 \pm 0/09$) و B ($3/6 \pm 0/07$) اندکی بیش از شاهد بود، با این وجود هیچ گونه تفاوت معنی داری بین آنها و شاهد مشاهده نشد. همچنین، تیمار C نیز با کلیه تیمارها با اختلاف زیاد دارای تفاوت معنی دار بود ($p \leq 0/05$). شاخص h/H در زمره مهم ترین شاخص های ارزیابی کیفیت مواد مغذی آبزیان محسوب می شود بطوریکه بالاتر بودن میزان h/H به عنوان نتیجه مطلوب تلقی می شود (Mitchoathai *et al.*, 2007). رنج $\Sigma h/\Sigma H$ در مطالعات مختلف بین 0/25 تا 3/59 گزارش شده است (حسینی و همکاران، 2014;

یافته های حاصل از شاخص آتروژنیک (AI) نشان می دهد که بین تیمارهای موجود اختلافات از نوع معنی دار می باشد ($p \leq 0/05$). بیشترین میزان AI به شاهد ($0/312 \pm 0/003$) و همچنین کمترین میزان آن به تیمار C ($0/092 \pm 0/001$) تعلق داشت. بیشترین میزان AI پس از شاهد به ترتیب به تیمارهای A ($0/285 \pm 0/007$) و B ($0/271 \pm 0/004$) مربوط می شد. میزان AI در تیمار C با اختلاف نسبت به سایر تیمارها در کمترین حد خود و دارای تفاوت معنی دار با سایر تیمارها بود. بین شاهد و سایر تیمارها نیز اختلافات موجود معنی دار می باشد ($p \leq 0/05$). شاخص آتروژنیک (AI) نیز به عنوان یک شاخص بین المللی معتبر به منظور ارزیابی کیفیت چربی محصول غذایی معرفی می شود. هرچه میزان کمتری را به خود اختصاص دهد به همان اندازه معرف کیفیت مطلوب چربی و شاخص تغذیه ای می باشد (Razmaitè *et al.*, 2012). تاکنون محدوده گزارش شده از AI بین 0/33 تا 2/37 در غذاهای دریایی بوده است (Turan *et al.*, 2010; Filho *et al.*, 2007) که نتایج به دست آمده در این تحقیق از محدوده ذکر شده پایین تر می باشد. بنابراین، تیمارهای حاوی زانتان به ویژه تیمار C دارای این ویژگی مطلوب در مقایسه با شاهد می باشند.

یافته‌های مربوط به هر یک از مولفه‌ها بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها می‌باشد ($P>0/05$). در فاکتورهای بو و بافت میگو، تیمارهای آزمایشی از امتیاز بیشتری در مقایسه با شاهد برخوردار بودند. همچنین، به استثنای دو مورد که مربوط به تیمار C در فاکتور ظاهر و A در پذیرش کلی بوده؛ در اغلب پارامترها، تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد حائز امتیازهای قابل قبولی می‌باشند. بر این اساس تیمارهای آزمایشی به واسطه دارا بودن صمغ زانتان در ترکیب پوشش خوراکی خود توانسته‌اند ویژگی‌های حسی مطلوبی به نمایش بگذارند. Usawakesmanee و همکاران (2005، 2008) عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارها در هر یک از مولفه‌های مربوط به ویژگی‌های حسی را گزارش نمودند که با یافته‌های مطالعه حاضر دارای همخوانی می‌باشد.

رژیم‌های غذایی مطرح می‌باشد. هرچه این میزان کمتر باشد به‌عنوان نتیجه مطلوب ارزش تغذیه‌ای تلقی خواهد شد (Williams, 2000). مقدار کمتر AI و TI در پیشگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی بسیار موثر است (حسینی و همکاران، 2014). محدوده گزارش شده از TI برای غذاهای دریایی بین 0/01 تا 1/18 بوده است (Turan et al., 2010; Filho et al., 2007). بنابراین، تمامی تیمارهای آزمایشی به‌ویژه تیمار C از میزان TI مطلوب برخوردار بودند (جدول 2).

ارزیابی شاخص‌های حسی

نتایج بدست آمده از ارزیابی ویژگی‌های حسی در جدول 4 آمده است. به‌منظور ارزیابی ویژگی‌های حسی، فاکتورهای رنگ، بو، مزه، بافت، ظاهر و پذیرش کلی مورد سنجش قرار گرفتند. به‌طور کلی،

جدول 4- ارزیابی ویژگی‌های حسی میگوهای سوخاری شاهد و تیمار شده با صمغ زانتان

معیار ارزیابی حسی	شاهد	تیمار A	تیمار B	تیمار C
رنگ	4/01±0/32 ^a	4/01±0/32 ^a	4/06±0/33 ^a	4/03±0/57 ^a
بو	4/01±0/33 ^a	4/06±0/27 ^a	4/03±0/31 ^a	4/04±0/22 ^a
مزه	3/95±0/33 ^a	3/96±0/23 ^a	3/97±0/33 ^a	4/01±0/21 ^a
بافت	4/03±0/31 ^a	4/06±0/32 ^a	4/05±0/34 ^a	4/07±0/32 ^a
ظاهر	4/02±0/52 ^a	4/04±0/54 ^a	4/07±0/57 ^a	3/86±0/33 ^a
پذیرش کلی	4/04±0/47 ^a	3/96±0/33 ^a	4/06±0/46 ^a	4/16±0/33 ^a

حروف لاتین مشابه در هر ردیف بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

B بوده است. در گروه‌های مهم اسید چرب SFA، MUFA، PUFA، DHA/EPA و PUFA/SFA، MUFA+PUFA/SFA، ω-3/ω-6 بهترین عملکرد مربوط به تیمار C بود. همچنین، سایر تیمارهای آزمایشی نیز در اغلب فاکتورها در مقایسه با شاهد دارای برتری بودند. ارزیابی شاخص‌های کیفیت چربی ($\sum h/H$ ، PI، AI و TI) از برتری تیمارهای حاوی زانتان به‌خصوص تیمار C در مقایسه با شاهد، دلالت دارد. در ارزیابی حسی نمونه‌ها، از نظر رنگ، بو، مزه، بافت، ظاهر و پذیرش کلی بین تیمارها تفاوتی مشاهده نشد. لذا با توجه به دستاوردهای مطالعه حاضر می‌توان تیمار C (1 درصد زانتان در آرد+ 1 درصد زانتان در لعاب) را به‌عنوان تیمار برگزیده از حیث حفظ کیفیت میگوی سوخاری معرفی نمود. از طرف دیگر جهت برطرف شدن مشکل میزان جذب لعاب و بازده محصول پیشنهاد می‌گردد دوزهای پایین‌تر زانتان در فرمولاسیون پوشش‌دهی میگو مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج مربوط به ترکیبات شیمیایی بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهای موجود می‌باشد. یافته‌های مطالعه حاضر بیانگر اثرگذاری مثبت افزودن هیدروکلئید زانتان در حفظ میزان رطوبت میگوی سوخاری در مقایسه با شاهد می‌باشد، بطوریکه میزان رطوبت در تیمارهای آزمایشی به ویژه C بیشتر از شاهد می‌باشد. تیمار آزمایشی B به‌واسطه بالاتر بودن میزان چربی ناشی از جذب روغن در قیاس با شاهد و تیمارهای دیگر دارای عملکرد ضعیف‌تری بود. همچنین، تیمار A نیز دارای میزان چربی کمتری در مقایسه با شاهد بوده است. تیمارهای شاهد و C در میزان جذب روغن دارای اختلاف معنی‌دار نبودند. یافته‌های مربوط به جذب لعاب نشان داد که پس از شاهد بیشترین میزان جذب لعاب به‌ترتیب به تیمارهای A و B مربوط می‌شود. همچنین پس از شاهد، بیشترین میزان بازده محصول در بین تیمارهای حاوی زانتان در میگوی سوخاری مربوط به تیمارهای A و

منابع

- A.O.A.C., 2000, Official Method of Analysis. (17 thd). Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists.
Akdeniz, N., 2004, Effects of different batter formulations on quality of deep fat fried carrot slices. A Thesis Submitted

- to the Graduate school of Natural and Applied Sciences of Middle east Technical University.
- Albert, A., Perez-Munuera, I., Quiles, A., Salvador, A., Fiszman, S. M., and Hernando, I., 2009, Adhesion in fried battered nuggets: performance of different hydrocolloids as predest using three cooking procedures. *Food Hydrocolloids*, 23, 1443-1448.
- Asmita, S. P., and Uday, S. A., 2012, Effect of coating of hydrocolloids on chickpea (*Cicer arietinum L.*) and green gram (*Vigna radiata*) splits during deep fat frying. *International Food Research Journal*, 20, 565-573.
- Avaz Khajeh, H., and Jorjani, S., 2015, Added hydroxypropyl methyl cellulose in coverage Fried shrimp and its effect on the absorption profile of fatty acids in the oil and deep frying. *International Journal of Food Industries*, 10, 75-82.
- Çelik, M., Diler, A., and Küçükgülmez, A., 2005. A comparison of the proximate compositions and fatty acid profiles of zander (*Sander lucioperca*) from two different regions and climatic condition. *Food Chemistry*, 92, 637-641.
- Chen, S. D., Chen, H.H., Chao, Y. C., and Lin, R. S., 2009, Effect of batter formula on qualities of deep-fat and microwave fried fish nuggets. *Journal of Food Engineering*, 95, 359-364.
- Das, A. K., Anjaneyulu, A. S. R., Gadekar, Y. P., Singh, R. P., and Pragati. H., 2008, Effect of full-fat soy paste and textured soy granules on quality and shelf-Life of goat meat nuggets in frozen storage. *Journal of Meat Science*, 80, 607-614.
- Dogan, S. F., Sahin, S., and Sumnu, G., 2005, Effects of soy and rice flour addition on batter rheology and quality of deep-fat fried chicken nuggets. *Journal of Food Engineering*, 71, 127-132.
- FAO., 2006, State of world aquaculture: FAO Fisheries Technical Paper, 500, Food and Agriculture Organization. Rome, Italy.
- Farajzadeh, Z., Rahimi, E., Hojjatoleslami, M., and Molavi, H., (2013), Production of low fat hamburger using hydrocolloid coatings. *Journal of Food Hygiene*, 2, 61-71.
- Filho, M. M. R., Ramos, M. I. L., Hiane, P. A., and Souza, E. M. T. D., 2010, Nutritional value of seven freshwater fish species from the Brazilian pantanal. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 1461-1467.
- Fiszman, S. M., and Salvador, A., 2003, Recent developments in coating batters. *Trends in Food Science and Technology*, 14, 399-407.
- Folch, J., Less, M., and Stanley, G. H. S., 1957, A Simple Method for The Isolation and Isolation and Purification of Total Lipids From Animal Tissues. *J. Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- Garcia, M. A., Ferrero, C., Campana, A., Bertola, N., Martino, M., and Zaritzky, N., 2004, Edible coatings from cellulose derivatives to reduce oil uptakes in fried products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3, 391-397.
- Gol Mohammadi, M., Khademi Shormasti, D., (2016), The effect of food active coating based on xanthan on microbial contamination of chicken fillet during storage in cold conditions, Nutrition Sciences Student Conference, Tehran.
- HMSO, U. K., 1994, Nutritional aspects of cardiovascular disease (report on health and social subjects No. 46. London: HMSO.
- Hong-wu, J. I., Guang-kun, P. A. N., Shu-cheng, L. I. U., Wei-ming, S. U., Hong-yu, L. U., and Chuang, P. A. N., 2014, Effect of soy protein isolate on quality of fried breaded shrimp. *Modern Food Science and Technology*, 30(4), 104-111.
- Hosseini, H., Mahmoudzadeh, M., Rezaei, M., Mahmoudzadeh, L., Khaksar R., Karimian Khosroshani, N., and Babakhani, A., 2014, Effect of different cooking methods on minerals, vitamins and nutritional quality indices of Kutum Roach (*Rutilus Frisii Kutum*). *Food Chemistry*, 148, 86-91.
- Jamshidi, A., and Shabanpour, B., 2013, The effect of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) gum added to predest and batters of talang queen fish (*Scomberoides Commersonianus*) nuggets on the quality and shelf life during frozen storage (-18 °C). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4, 382-391.
- Jamshidi, A., Shabanpour, B., Rahmani Farah, K., Peyghambari, Y., Rostamzadeh, H., Azari Beh, M., and Barzegar, L., 2012, The effect of xanthan gum, carboxymethyl cellulose and alginate and thawing conditions on the quality of Fish Finger. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 4(1), 295-306.
- Kan Pan, G., Wu Ji, H., Cheng Liu, S., Ming Su, W., and Yu Lu, H., 2013, Effect of soy protein isolate addition on quality of deep-fat fried breaded shrimp. *Journal of Food and Nutritional Research*, 6, 174-180.
- Katzbauer B., 1998, Properties and applications of xanthan gum. *Poly. Degrad. Stabil.*, 59, 81-84.
- Miranda, J. M., Martinez, B., Perez, B., Anton, Y., Vaazquez, B. I., Fente, C. A., Franco, C. M., Rodriguez, J. L., and Cepeda, A., 2010, The effects of industrial pre-frying and domestic cooking methods on the nutritional compositions and fatty acids profile of two different frozen breaded foods. *Food Science and Technology*, 43, 1271-1276.
- Mitchaothai, J., Yuangklang, C., Wittayakun, S., Vasupen, K., Wongsutthavas, S., Srenanul, P., Hovenier. R., Everts, H., and Beynen, A. C., 2007, Effect of dietary fat type on meat quality and fatty acid composition of various tissues in growing-finishing swine. *Meat Science*, 76, 95-101.
- Moreira, R. G., Castell-Perez, M. E., and Barrufet, M. A., 1999, Deep-Fat Frying fundamentals and applications. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland. PP: 75-104. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland.
- Parvaneh, V., 1998. Quality control and chemical analysis of food. Tehran University Press. 325 p.
- Pawar, P. A., Monga, R., Purwar, A., 2014, Effect of hydrocolloids on the oil uptake of kachori. *International Journal*

- of Scientific Engineering and Technology*, 3(5), 686-688.
- Pazos, M., Gallardo, J. M., Torres, J. L., Medina, I., 2005, Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry*, 92, 547-557.
- Pirestani, S., Sahari, M. A., Barzegar, M., 2010, Fatty acids changes during frozen storage in several fish species from south Caspian sea. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12, 321-329.
- Razmaitė, V., Švirnickas, G. J., 2012, Comparison of fatty acid composition in different PGI tissues. *Veterinarija Ir Zootechnika (Vet Med Zoot)*. T, 58 (80), 77-82.
- Roman, M. C., 2003, Lipide in Human Nutrition. Chemical and Functional Properties of Food Lipids. Zdzislaw, E. Sikorski (ed), *CRC PRESS*, New York Washington DC: 201.
- Shabanpour, B., and Jamshidi, A., 2013, Combined effect of light salting and hydrocolloids as flour milling quality salmon nuggets. *Journal of Exploitation and Aquaculture*, 1, 13-26.
- Simopoulos, A. P., 2008, The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233, 674-688.
- Testi, S., Bonaldo, A., Gatta, P. P., and Badiani, A., 2006, Nutritional traits of dorsal and ventral fillets from three farmed fish species. *Food Chemistry*, 98, 104-111.
- Turan, H., Sonmez, G., and Kaya, Y., 2007, Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. *Journal of Fisheries Sciences*, 1, 97-103.
- Usawakesmanee, W. S., Wuttijunong, P., Chinnan, M., Jangchud, A., and Raksakulthai, N., 2005, The effects of edible coating ingredient as a barrier to moisture and fat of fried breaded Potato. *Kasetsart Journal-Natural Science*, 39, 98-108.
- Usawakesmanee, W. S., Chinnan, M., Wuttijunong, P., Jangchud, A., Raksakulthai, N., 2008, Effect of edible coating ingredients incorporated into pre-dusting mix on moisture content, fat content and consumer acceptability of fried breaded product. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30, (Suppl 1), 25-34.
- Venugopal, V., 2006, Seafood processing. *CRC Press* 2006. P. 485.
- Wijendran, V., Hayes, K. C., 2004, Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. *Annual Review of Nutrition*, 24, 597-615.
- Williams, P. A., Phillips, G. O., 2000, Handbook of hydrocolloid, Introduction to food hydrocolloids. *Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC*.

The effect of Xanthan gum added to the coated breaded shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on oil uptake, nutritional quality indices and sensory properties

B. Attar¹- S. Z. Sayyed-Alangi^{2*}-S. Jorjani³

Received: 2016.06.18

Accepted: 2017.05.20

Introduction: Value-added products, referring to the fact that a raw commodity or commodities are transformed into a processed product through use of materials and technology, may have different appearances, textures, tastes and smells than their raw material. Fried product is one of the most popular ready to eat foods all around the world. They have excellent sensory qualities due to their appealing flavor and texture. Products such as shrimp usually coated with breading before frying to induce additional sensory and quality attributes. The process of battering and breading provides special functions in food products, including improved appearance of the products, increased texture crispness, reduced oil uptake during the frying process and increased the shelf life of the coated products.

Hydrocolloids are used extensively in food technology as thickening and gelling agents, stabilizers, and emulsifiers. In addition, the hydrocolloid coatings are of great interests due to their desirable barrier properties to gas/moisture and good mechanical characteristics. Thus, a variety of foods have been coated with hydrocolloids to prevent moisture loss, preserve texture, and maintain color, consequently extending the product shelf-life. Specifically, the hydrocolloid coatings are often known to reduce the oil uptake of fried foods. The mechanisms of the oil uptake during frying are associated with heat transfer from the frying oil to the food and the migration of water and oil. Various hydrocolloids have been tested as an oil barrier coating material and the effectiveness of hydrophilic and thermo-gelling hydrocolloids in reducing oil uptake during frying has been well reported in previous studies.

Material and Methods: Fresh peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) was purchased from Gomishan city, Golestan province, Iran. Xanthan gum was bought from Asia Research Petrochemisry (Iran). White flour, corn flour, breading powder, oil and salt were prepared from the local supermarket. All other chemicals used in this study had analytical grade and were gained from Fluka or Merck companies.

The frozen shrimps were thawed at room temperature before processing. Four different formulations were applied in pre-dusting and battering as following:

Control= without xanthan in pre-dust and batter,

A=2% xanthan in pre dust,

B=2% xanthan in batter,

C=1% xanthan in pre dust + 1% xanthan in batter.

The batter formulation was consisted of wheat flour (75%), corn flour (24.5%), salt (0.5%). The dry ingredients were blended for 3 min at speed 2 m/s in a Kenwood Major Classic mixer (Kenwood-BL460) with water (1:1.4 solid to water ratio). In each treatment, firstly, pre-dusting was done and then, battering. Afterwards, it was allowed to drip additional batter for 30 s. For final coating, orange bread crumbs were used (Gols Company). The samples were pre-deep-fried by sunflower oil at 190 °C for 30 s (Fritaurus Professional 3 domestic fryer, Barcelona, Spain). The treatments were cooled to room temperature for 30 min. Then, they were placed in plastic freezer bags (LDPE film, thickness 150 μ) and stored at -18 °C.

Moisture content in the samples was determined in quadruplicate according to the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000) method. Fat content of fried products was distinguished using Soxhlet extractions according to the AOAC (2000) method No. 992.15.

Batter pickups (%) were determined as following equation:

$$\text{Batter pickup (\%)} = \frac{\text{Weight of coated shrimp} - \text{Weight of uncoated shrimp}}{\text{Weight of coated shrimp}} \times 100$$

1. Department of Food and Science Technology, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran.

2. Department of Chemistry, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran.

3. Department of Fishery, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

(*Corresponding Author Email: zalangi@gmail.com)

Product yield (%) was calculated by weight of the cooked shrimp block/ weight of the raw shrimp block \times 100.

Quantitation of fatty acid methyl esters in raw and fried breaded shrimp was carried out by gas chromatography (Unicam-4600) with 30 mm \times 0.25 mm column (Film Tekness-0.22 μ l) and FID detector, using glyceryl tritridecanoate (C13:0) as an internal standard (Sigma, Barcelona, Spain). Fatty acids were expressed as percentage of total fatty acid methyl esters or in absolute content (mg/100 g food).

Fried shrimp coated with the selected formulations was evaluated by a trained sensory panel of 12 members. Each sample was randomly numbered and presented to the panel member. A hedonic panel was also performed by the same panelists, who evaluated aroma, taste, texture, color, appearance and overall acceptability characteristics. A hedonic 5-point scale was used, 1s unusable, 2s dislike, 3s acceptable, 4s like and 5s like very much. All data are reported as mean \pm standard deviations of triplicate. One-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare the means of all evaluated parameters. Differences were considered significant at $P < 0.05$.

Results and Discussion: The results of chemical compositions were represented the lowest fat and the most moisture in the A and C treatments, respectively. After the control sample, the most batters pick-up were related to the A treatment. Furthermore, the highest product yields after the control sample were belonged to the A and B treatments that the differences were not significant. According to essential fatty acid groups (SFA, MUFA, PUFA, ω -3/ ω -6 MUFA+PUFA/SFA, PUFA/SFA and DHA/EPA), the best sample was the C treatment. Also, evaluating nutritional quality indices (PI, Σ h/H, AI and TI) was shown that the C sample had the best performance. The results of sensory evaluation also indicated that there were no significant differences in color, odor, taste, texture, appearance and overall acceptability. Considering the results, treatment C (1% xanthan in predust + 1% xanthan in batter) has had a better performance in maintaining the quality of fried shrimp.

Keywords: Breaded shrimp, Xanthan, Chemical composition, Oil uptake, Nutritional quality indices.

اثر فرآیند تغلیظ بر خصوصیات رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی آلبیمو

علی معتمدزادگان^{1*} - الهه امیدبخش امیری² - محبوبه جمشیدی² - تندیس خسروی راد³

تاریخ دریافت: 1395/07/17

تاریخ پذیرش: 1396/02/18

چکیده

در عملیات صنعتی، محصول تحت تاثیر دامنه‌ای از نرخ‌های برشی قرار می‌گیرد، بنابراین، شناخت تغییرات در رئولوژی با تغییرات دما، فرکانس و نرخ‌های برشی برای طراحی تجهیزات عملیات مورد نیاز است. از آلبیمو در صنعت غذا به‌طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. اطلاعات رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی می‌تواند در افزایش مقیاس و بهینه‌سازی فرآیند، حمل و نقل و نگهداری کنسانتره لیمو مهم باشد. هدف از این مطالعه بررسی رئولوژی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کنسانتره آلبیمو تولید شده با روش تغلیظ تحت خلا می‌باشد. فرآیند تغلیظ نمونه آلبیمو تا غلظت‌های 25، 35، 45، 55 و 65 درجه بریکس انجام گردید. میزان مواد جامد محلول، pH، اسیدیته و رنگ، رفتار جریان و ویسکوالاستیسیته تابع کرنش، فرکانس و دما بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها با روش تفاوت حداقل معنی‌دار صورت گرفت. با افزایش بریکس، pH کاهش و اسیدیته افزایش یافت. افزایش غلظت موجب کاهش پارامتر L^* و b^* و افزایش در پارامتر a^* شده است. نمونه کنترل و نمونه‌ها با بریکس 25 و 35 رفتار نیوتونی اما نمونه‌ها با بریکس 45، 55 و 65 رفتار رقیق‌شونده با برش داشتند و برازش مناسبی با مدل کراس نشان دادند. این سه نمونه رفتار تیکسوتروپ داشته و با افزایش بریکس، وابستگی به زمان بیشتر شد. در کل دامنه کرنش و فرکانس مورد مطالعه، مقادیر مدول ویسکوز در کلیه نمونه‌ها بیشتر از مقادیر الاستیک بوده است و هیچ برخوردی میان دو مدول مشاهده نشد. در کل دامنه دمایی مورد مطالعه، ویژگی ویسکوز برجسته‌تر از ویژگی الاستیک بود. مدول کمپلکس و ویسکوزیته کمپلکس به ترتیب برای نمونه 45، 55 و 65 افزایش یافت. نمونه کنسانتره آلبیمو یک ماده رقیق و تیکسوتروپ بوده، زلی تشکیل نداد و رفتار نمونه‌ها مایع ویسکوالاستیک بود. با افزایش بریکس، اگرچه، مقاومت به نرخ‌های برشی بالا افزایش می‌یابد اما توانایی در بازیافت ساختار تخریب شده در اثر حرارت کاهش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: آلبیمو، خصوصیات فیزیکوشیمیایی، خصوصیات رئولوژیکی

مقدمه

لیمو ترش میوه رسیده گیاه *Citrus Limonume* از خانواده *Rotaceae* می‌باشد. این گیاه اولین بار در کشورهای چین و هندوستان پرورش یافته و به تدریج به سایر کشورها راه یافته است. در ایران نیز انواع مختلف آن در شمال و همچنین در جنوب به‌طور گسترده‌ای کشت می‌شود (زرگری، 1368). آلبیمو حاوی فلاوانون‌ها، فلاوونوئیدها و گلوکوسید فلاوون‌ها می‌باشد (Caristi et al., 2003). علاوه بر این، آلبیمو دارای حدود 5-6٪ اسید سیتریک می‌باشد که به آن مزه ترشی را می‌دهد و همچنین، غنی از اسید آسکوربیک

(ویتامین C)، روغن‌های فرار، پکتین، مواد معدنی، قندها، پلی‌ساکاریدها، کاروتنوئیدها و لیمونوئید تلخ می‌باشد (Ranganna et al., 1983). آلبیمو از زمان‌های زیادی به‌عنوان عامل درمان‌کننده استفاده و به دلیل داشتن خصوصیات ضدعفونی‌کننده، پادزهری برای سموم مختلف بوده و در درمان بیماری‌های مختلفی از قبیل آسکوروی (کمبود ویتامین C)، سرماخوردگی و سنگ کلیه به‌کار گرفته شده است (Touhami et al., 2007).

آلبیمو مهمترین محصول تهیه شده از میوه است (Ibarz et al., 1989) که فرآیندهای تجاری شامل استریلیزاسیون، پاستوریزاسیون یا تبخیر جهت افزایش عمر نگهداری آن انجام می‌شود (Chin et al., 2009). تهیه کنسانتره آب میوه در قالب آب‌میوه خشک یا کنسانتره منجمد به‌عنوان یک روش جایگزین برای حفظ مواد مغذی بیشتر و مواد فرار میوه‌های تازه است. آب‌میوه به‌دست آمده از طریق حذف بخش عمده‌ای از محتوای آب با استفاده از تبخیر تحت خلاء یا انجماد به‌عنوان کنسانتره شناخته می‌شود (Lozano, 2006). مواد مغذی و طعم در کنسانتره آب میوه‌ها از اهمیت قابل توجهی برخوردار

1 و 2- به ترتیب دانشیار و دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.

3- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی.

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

DOI: 10.22067/ifstj.v1396i0.59409

است. از دیگر موارد مهم در تهیه کنسانتره‌ها ارزیابی ویسکوزیته، غلظت و دما در طی فرآیند است (Chin *et al.*, 2009). ویژگی‌های رفتار جریان آب‌میوه فرآیند شده در تعیین توان پمپ و اندازه لوله‌ها، طراحی تجهیزات فرآیند مانند تبادل کننده حرارت، مخلوط کن، پرکن‌ها و غیره بسیار مهم است (Lozano, 2006; Kimball *et al.*, 2004). برای مثال در عملیات طراحی، تشخیص جریان از نوع آرام یا توربولانت باید انجام شود (Gratão *et al.*, 2006). اگر به فرض جریان نیوتنی ساده محسوب شود، تخمین زمان هلدینگ اشتباه می‌گردد (Lozano, 2006). علاوه بر این، ویژگی‌های رئولوژی در حمل و نقل نیز باید مورد توجه قرار گیرد. در اواپراتورهای مدرن از نرخ‌های برشی بالا جهت کاهش ویسکوزیته، افزایش سرعت انتقال حرارت و در نتیجه ذخیره انرژی استفاده می‌شود. افزایش ویسکوزیته کنسانتره داخل اواپراتور موجب سوختن محصول و کاهش بازدهی محصول و انرژی می‌شود. ویسکوزیته کنسانتره تحت تاثیر دما و غلظت می‌باشد (Magerramov *et al.*, 2007). بنابراین، درک درستی از چگونگی تاثیر تبخیر بر ویسکوزیته در غلظت و دماهای مختلف مورد نیاز است. علاوه بر این، مدل‌های ریاضی جایگزین مناسب و کاربردی برای آزمایشات است.

تاکنون بررسی‌های زیادی بر روی اثرات دما و غلظت بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی تعدادی از آب‌میوه‌ها مانند هلو (Avila and Silva, 1999)، آناناس (Rattanathanalerk *et al.*, 2005)، نارنج (نصیری و همکاران، 1393) پرتقال (Jesus *et al.*, 2007)، انبه (Dak *et al.*, 2007) و کیوی (Goula and Adamopoulos, 2012) انجام شده است. تخریب حرارتی رنگ پوره هلو مدل‌سازی و مشخص شد، تخریب رنگ هلو می‌تواند شاخصی برای شرایط فرآیند استریلیزاسیون باشد (Avila and Silva, 1999). در مطالعه اثر تیمار حرارتی بر افت کیفیت آب آناناس، پارامترهای رنگ هانتر و تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال بررسی شدند. نتایج نشان داد، دمای فرآیند اثر قابل ملاحظه‌ای بر تغییر رنگ آب آناناس دارد (Rattanathanalerk *et al.*, 2005). در بررسی رئولوژی و برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کنسانتره آب نارنج تغلیظ شده تحت خلا، نمونه‌ها رفتار غیرنیوتنی رقیق‌شونده با برش را نمایش دادند. میزان ویتامین C در اثر تغلیظ کاهش پیدا کرد و رنگ فرآورده نیز متأثر از غلظت و دمای تغلیظ محصول بود (نصیری و همکاران، 1393). با تغلیظ آب پرتقال با استفاده از اسمز معکوس، قند و ویتامین C نسبت به آب پرتقالی که تنها در اثر فشردن پرتقال به‌دست آمد، بیشتر حفظ شد. آب پرتقال تغلیظ شده با اسمز معکوس، اسیدیته، ویتامین C و ویسکوزیته بیشتری در نتیجه پالپ بیشتر و میزان مواد جامد محلول بیشتر داشته است (Jesus *et al.*, 2007). خصوصیات جریانی آب انبه در دماها و غلظت‌های مختلف مواد جامد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که آب انبه در همه شرایط آزمون

سودوپلاستیک/ رقیق‌شونده با برش می‌باشد (Dak *et al.*, 2007). نتایج بررسی خصوصیات رئولوژیکی آب کیوی در غلظت‌های مختلف مواد جامد و در دماهای مختلف نشان داد، نمونه‌ها رفتار سودوپلاستیک دارند و با مدل پاورلا برازش شدند. در تنش‌های برشی پایین نمونه‌ها رفتار تیکسوتروپیک نشان دادند که در تنش‌های بالاتر به رئوپکتیک تغییر یافت (Goula and Adamopoulos, 2012). با توجه به اینکه در صنعت ایران از آلبیمو جهت چاشنی غذا استفاده گسترده‌ای می‌شود، هدف از این مطالعه بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و رئولوژی کنسانتره آلبیمو تولید شده با روش تغلیظ تحت خلا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

لیموترش (*Citrus limon var Eureka*) از بازار محلی ایران تهیه شد. بعد از پوست‌گیری، آب لیمو استخراج شد. بعد از صاف کردن توسط فیلتر پارچه‌ای، تبخیر تحت خلا با دستگاه تبخیرکننده چرخشی تحت خلاء (TAT-94-1046، طیف آزما طب، ایران) در دمای 65°C انجام گرفت. فرآیند تغلیظ تا غلظت‌های 25، 35، 45 و 55 و 65 درجه بریکس از نمونه اولیه با بریکس 7 انجام گردید. کنسانتره‌های تولیدی تا زمان آزمایشات، در یخچال با دمای 4°C نگهداری شدند.

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

اندازه‌گیری مواد جامد محلول

طی فرآیند تغلیظ میزان مواد جامد محلول بر حسب بریکس با استفاده از دستگاه رفاکتومتر (A-کروس، DR 301-95، آلمان) و در دمای 20°C اندازه‌گیری شد (استاندارد ملی شماره 2685).

اندازه‌گیری pH

اندازه‌گیری pH نمونه‌ها به کمک pH متر (سنا pH/دماسنج، ایران) انجام شد (استاندارد ملی شماره 2685).

اندازه‌گیری اسیدیته

اسیدیته مطابق با استاندارد ملی ایران (شماره 2685) و با روش تیتراسیون با سود 1N. نرمال انجام و اسیدیته بر حسب اسید سیتریک (بر حسب گرم در صد گرم) گزارش گردید (استاندارد ملی شماره 2685).

آزمون رنگ‌سنجی

به‌منظور بررسی پارامترهای رنگی نمونه‌ها از دستگاه رنگ‌سنج (ایزارکاران فن پویای شمال، ایران) استفاده شد. فاکتورهای L^* ، a^* و

b* در هر نمونه گزارش شد.

رئومتر و با نرم‌افزار رئوپلاس محاسبه شد. مساحت حلقه هیستریسیس (pa/s) طبق اطلاعات نرم‌افزار، مقدار بازیافت ساختار را نشان می‌دهد. در واقع می‌توان گفت، اعداد منفی به‌دست آمده از نرم‌افزار، نشان‌دهنده رفتار رئوپکتیک و اعداد مثبت نشان‌دهنده رفتار تیکسوتروپیک است.

آزمون‌های رئولوژی

کلیه آزمون‌های رئولوژی توسط دستگاه رئومتر آنتون پار (فزیکا MCR 301، آنتون پار، اتریش) انجام شد. ژئومتری مورد استفاده double gap بوده و فاصله بین صفحه‌ها برای تمامی آزمون‌ها روی zerogap و به‌طور دقیق 0/02 میلی‌متر تنظیم شد. تمامی آزمون‌ها در دمای کنترل شده 20 °C انجام شدند.

آزمون روبش کرنش

نمونه‌ها در این آزمون تحت کرنش 0/01 تا 100 درصد در فرکانس ثابت 1 هرتز قرار گرفتند. اولین هدف از انجام این آزمون تعیین محدوده خطی ویسکوالاستیک است. در مرحله بعدی وابستگی مدول کمپلکس و ویسکوزیته کمپلکس به کرنش نشان داده می‌شود.

آزمون رفتار جریان

در این آزمون نمونه‌ها تحت نرخ برش S^{-1} 0/001 تا 300 قرار می‌گیرند. این آزمون در 2 مرحله انجام شد. ابتدا نرخ برشی از S^{-1} 0/001 تا 300 افزایش یافت. در مرحله دوم نرخ برشی از 300 تا 0/001 کاهش یافت. در این آزمایش وابستگی ویسکوزیته ظاهری به نرخ برشی تعیین شد. داده‌های ویسکوزیته در سه نرخ برشی در هر دو مرحله افزایشی و کاهش‌ی اندازه گرفته شد. در این آزمون پارامترهای حاصل از برازش مدل‌های نیوتنی، بینگهام، کراس و هرشل بالکی، مورد بررسی قرار گرفت.

آزمون روبش فرکانس

در این آزمون نمونه‌ها تحت کرنش ثابت 0/1 درصد از فرکانس 0/1 تا 100 هرتز مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌های حاصل از آزمون با مدل پاورلا برازش شد.

$$G'' = a\omega^b \quad (2) \quad \text{مدل پاورلا}$$

"G": مدول ویسکوز (Pa)، w: فرکانس زاویه‌ای (rad/s)، a: ثابتی است که وابستگی مدول ویسکوز به فرکانس را نشان می‌دهد، b به توان فرکانس اشاره می‌کند.

$$(1) \quad \text{مدل نیوتنی} \quad y = ax$$

y: تنش برشی (Pa)، x: نرخ برشی (S^{-1})، a: ویسکوزیته (Pa.s)

$$(2) \quad \text{مدل بینگهام} \quad y = a + bx$$

y: تنش برشی (Pa)، x: نرخ برشی (S^{-1})، a: تنش تسلیم (Pa)،

b: ویسکوزیته (Pa.s)

$$(3) \quad \text{مدل کراس} \quad y = \frac{y_0 - y_{inf}}{1 + (c \cdot x)^p} + y_{inf}$$

x: نرخ برشی (S^{-1})، y: ویسکوزیته (Pa.s)، y_0 : ویسکوزیته در نرخ

برشی صفر¹ (Pa.s)، y_{inf} : ویسکوزیته در نرخ برشی بی‌نهایت² (Pa.s)،

c: ثابت زمان (s)، p: توان بدون بعد (Khalili Garakani et al., 2011).

$$(4) \quad \text{مدل هرشل بالکی} \quad y = a + bx^p$$

x: نرخ برشی (S^{-1})، y: تنش برشی (Pa)، a: تنش تسلیم (Pa)، b:

ضریب قوام یا ثابت مدل هرشل بالکی: $(pa \cdot s^n)$ ، p: اندیس جریان

(بدون بعد) کاهش نرخ برشی در مرحله دوم به جهت تعیین رفتار

وابستگی به زمان انجام شد. فضای میان منحنی بالارونده و منحنی

پایین‌رونده را ناحیه هیستریسیس می‌نامند. این ناحیه توسط دستگاه

آزمون روبش دما

در این آزمون تحت کرنش 0/1 درصد، فرکانس ثابت 1 هرتز، دما از 10 °C تا 70 افزایش و سپس از 70 به 18/33 درجه کاهش یافت. سرعت تغییر دما، 5 °C در هر دقیقه بوده است. در این آزمون وابستگی مدول کمپلکس و ویسکوزیته کمپلکس به دما نشان داده می‌شود.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و حداقل با سه تکرار انجام شدند. به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار آماری SPSS استفاده گردید. تمامی مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت‌های معنی‌دار (LSD) در سطح معنی‌دار 5 درصد انجام شد.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

میزان pH و اسیدیته نمونه‌ها در بریکس‌های مختلف اندازه‌گیری و با نمونه شاهد مقایسه شدند. نتایج در جدول 1 گزارش شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش بریکس pH کاهش و اسیدیته افزایش یافته است ($p < 0/05$). میزان pH بین 1/5-2/57

1 Zero shear viscosity

2 Infinite shear viscosity

بر آب آناناس مشاهده شد که تشکیل هیدروکسی‌متیل‌فورفورال با افزایش زمان حرارت‌دهی به صورت خطی افزایش یافته است و در درجه حرارت‌های بالاتر، مقادیر بیشتری مشاهده شد. تشکیل هیدروکسی‌متیل‌فورفورال و رنگدانه‌های قهوه‌ای نشان‌دهنده این است که واکنش قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی در طول فرآیند رخ می‌دهد (Rattanathanalerk *et al.*, 2005). در مطالعه تغییرات رنگ پوره هلو که تحت تاثیر حرارت قرار گرفته‌اند نتایج نشان داد که پوره هلو تیره‌تر شده‌اند و پارامتر L^* کاهش و a^* افزایش یافته است. همچنین از زردی (کاهش پارامتر b^*) کاسته شده است. آنها نتیجه گرفتند که دلیل اصلی تغییر رنگ، تجزیه کاروتنوئیدها و قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی (میلارد) می‌باشد (Avila and Silva, 1999). در مطالعه بر روی کنسانتره آب نارنج هم نتایج نشان داد که در تمامی دماهای مورد مطالعه با افزایش غلظت کنسانتره روشنایی کاهش یافته است (نصیری و همکاران، 1393). همچنین، در مطالعه تغلیظ آب پرتقال با استفاده از روش اسمز معکوس نیز نشان‌دهنده این مطلب بود که به دلیل خروج آب از آب میوه، روشنایی آب میوه کاهش می‌یابد (Jesus *et al.*, 2007). بنابراین، قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی میلارد (تشکیل هیدروکسی‌متیل‌فورفورال و پلیمریزاسیون آن) و تخریب رنگدانه‌ها می‌تواند عامل مهمی در تغییر رنگ باشد اگرچه کاهش میزان رطوبت و افزایش مواد جامد محلول نیز دلیل دیگری برای تیرگی رنگ است.

می‌باشد، که نشان‌دهنده این است، آلیمو در بریکس‌های مختلف اسیدی می‌باشد و بریکس‌های بالاتر که pH کمتری دارند بسیار اسیدی هستند. در آب یک نوع سیب آفریقایی هم مشاهده شده است که با افزایش مواد جامد در آب‌میوه، pH کاهش و اسیدیته افزایش یافت. هرچند کاهش pH معنادار نبوده است (Awol *et al.*, 2013). به‌منظور بررسی اثر تغلیظ بر رنگ نمونه آلیمو، پارامترهای رنگ هانتر به‌عنوان شاخص انتخاب و بررسی شدند که L^* (روشنایی)، a^* (قرمزی - سبزی) و b^* (زردی - آبی) می‌باشد. میزان پارامترهای رنگ هانتر نمونه شاهد و نمونه‌ها با بریکس‌های مورد مطالعه در جدول 1 نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود افزایش غلظت موجب کاهش پارامتر L^* و b^* و افزایش در پارامتر a^* شده است ($p < 0/05$). کاهش پارامتر L^* نشان‌دهنده تیره شدن نمونه آلیمو می‌باشد. همچنین، در نمونه شاهد پارامتر a^* منفی است که نشان‌دهنده رنگ سبز می‌باشد و با افزایش غلظت عدد مثبت شده و به سمت قرمزی رفته است و پارامتر b^* نیز با افزایش غلظت کاهش، بنابراین، زردی کاهش یافته است. این نتایج نشان‌دهنده این است که نمونه‌ها در معرض قهوه‌ای شدن قرار گرفته‌اند. قهوه‌ای شدن آنزیمی در این مطالعه به دلیل حساسیت آنزیم‌ها به حرارت‌های بالاتر از 50 درجه سانتی‌گراد می‌تواند نادیده گرفته شود (Martinez and Whitaker, 1995). قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی یکی از عوامل مهم در تغییر رنگ فرآورده‌های میوه‌ای می‌باشد. در مطالعه اثر فرآیند حرارتی

جدول 1- میانگین و انحراف معیار برخی از خصوصیات فیزیکی شیمیایی آلیمو

ویژگیها	نمونه	شاهد	بریکس 25	بریکس 35	بریکس 45	بریکس 55	بریکس 65
pH	2/57 ^a ±0/02	2/34 ^b ±0/04	2/23 ^c ±0/02	2/23 ^c ±0/02	2/06 ^d ±0/07	1/73 ^e ±0/02	1/50 ^f ±0/05
اسیدیته (بر حسب گرم در صد گرم)	5/76 ^a ±0/22	48/82 ^b ±0/14	31/04 ^c ±0/52	32 ^c ±0/3	43/52 ^d ±0/25	52/48 ^e ±0/33	56/96 ^f ±0/22
L^*	62/76 ^a ±0/43	48/82 ^b ±0/14	31/04 ^c ±0/52	31/04 ^c ±0/52	55/42 ^d ±0/66	13/97 ^e ±0/25	7/79 ^f ±0/86
پارامترهای رنگی	-6/65 ^a ±0/13	6/12 ^b ±0/18	14/38 ^c ±0/41	14/38 ^c ±0/41	10/46 ^d ±0/37	12/86 ^e ±0/30	8/09 ^f ±0/91
b^*	30/54 ^a ±0/36	26/59 ^b ±0/75	18/8 ^c ±0/53	18/8 ^c ±0/53	15/12 ^d ±0/38	8/80 ^e ±0/18	4/8 ^f ±0/65

در هر ردیف داده‌هایی که با حروف کوچک لاتین یکسان مشخص شده‌اند، بر اساس آزمون LSD با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند. داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

تغییر چشمگیری نشان نداد اما برای سایر نمونه‌ها با افزایش نرخ برشی ویسکوزیته کاهش یافت ($p < 0/05$). تفاوت میان ویسکوزیته‌ها نسبت به افزایش یا کاهش نرخ برشی در هر دو مرحله از آزمون، در بریکس‌های بالاتر مشهودتر بود. کاهش ویسکوزیته در طی افزایش نرخ برشی، می‌تواند ناشی از باز شدن پیوندها و جهت یافتگی واحدهای ساختاری باشد (Williams and Phillips, 2000). آب‌میوه از فاز محلول یا پالپ پراکنده شده در یک فاز سرم تشکیل شده است. رفتار رقیق‌شونده با برش در کنسانتره‌های آلیمو می‌تواند به دلیل مواد فاز غیرپیوسته آن از قبیل مواد فیبری باشد در حالیکه آب به‌عنوان فاز پیوسته عمل می‌کند. مواد جامد نامحلول اساساً ترکیبات پروتئینی و

آزمون‌های رئولوژی

آزمون رفتار جریان

با آزمون رفتار جریانی ویژگی‌های رئولوژی نمونه تحت تخریب ساختار بدست آورده شد. ویسکوزیته‌های بدست آمده در هر دو مرحله افزایش نرخ برشی و کاهش نرخ برشی در سه نرخ برشی 0/05، 52/7 و 300 (s^{-1}) در جدول 2 گزارش شده است. در هر دو مرحله از آزمون، در هر سه نرخ برشی ویسکوزیته با افزایش بریکس افزایش یافت. با افزایش نرخ برشی، ویسکوزیته نمونه کنترل و نمونه با بریکس 35 در طی افزایش نرخ برشی از 52/7 تا 300 از لحاظ آماری

بررسی پژوهش‌های پیشین مشاهده شد، قند نیز می‌تواند ویسکوزیته ظاهری را تحت تاثیر قرار دهد. رفتار رقیق‌شونده با برش در حضور غلظت‌های بالاتر قند بیشتر می‌شود. در چنین غلظت‌هایی معمولاً انبوهش پلی‌ساکاریدی رخ داده و شبکه سه‌بعدی تشکیل می‌شود. بنابراین انرژی مورد نیاز برای تخریب ساختار شبکه افزایش می‌یابد (Braccini et al., 2005). اما در نمونه‌های حاضر هیچ‌گونه مدرکی برای تشکیل ژل وجود ندارد. در اینجا، افزایش ویسکوزیته در نتیجه افزایش کار مورد نیاز جهت جریان یافتن به دلیل اصطکاک حاصل از حرکت مولکول‌هاست. در واقع افزایش در ویسکوزیته فاز پیوسته منجر به افزایش در نیروی برشی بکار رفته می‌شود.

پکتیکی هستند (Augusto et al., 2012). مطالعه Sharma و همکاران در سال (1996) بر خصوصیات رئولوژیکی پالپ گوجه‌فرنگی، نشان داد که پکتین فاکتور مهمی در افزایش ویسکوزیته محصولات غذایی می‌باشد، در حالیکه پروتئین نقش کمتری را ایفا می‌کند (Sharma et al., 1996). بنابراین، یک عامل موثر در این پدیده می‌تواند حضور پکتین در نمونه آبلیمو باشد. در سیستم‌های پلی‌ساکاریدی با افزایش غلظت پلیمر، ویسکوزیته بالاتر می‌رود. همچنین با افزایش نرخ برشی ویسکوزیته کاهش می‌یابد (do Nascimento et al., 2016). پکتین موجود در آبلیمو به‌عنوان یک پلی‌ساکارید می‌تواند نقش موثری در رفتار رقیق‌شونده با برش مشاهده شده در کنسانتره لیمو با غلظت‌های بالا داشته باشد. با

جدول 2- میانگین ویسکوزیته (Pa.s) نمونه‌های کنسانتره لیمو در بریکس‌های مختلف در سه نرخ برشی $0/05s^{-1}$ ، $52/7$ و 300

بریکس	نرخ برشی $0/05 (s^{-1})$		نرخ برشی $52/7 (s^{-1})$		نرخ برشی $300 (s^{-1})$	
	نمودار افزایشی	نمودار کاهش	نمودار افزایشی	نمودار کاهش	نمودار افزایشی	نمودار کاهش
7 (کنترل)	0/0208 ^{Aa}	0/00155 ^{Ba}	0/00132 ^{Ca}	0/0013 ^{Ca}	0/00135 ^{Ca}	0/00135 ^{Ca}
25	0/0229 ^{Ab}	0/00591 ^{Bb}	0/00522 ^{Cb}	0/00529 ^{Cb}	0/00509 ^{Db}	0/00509 ^{Db}
35	0/0309 ^{Ac}	0/0107 ^{Bc}	0/0108 ^{Bc}	0/0108 ^{Bc}	0/0105 ^{Bc}	0/0105 ^{Bc}
45	0/0415 ^{Ad}	0/0314 ^{Bd}	0/0283 ^{Cd}	0/0284 ^{Cd}	0/0267 ^{Dd}	0/0267 ^{Dd}
55	0/398 ^{Ae}	0/260 ^{Be}	0/218 ^{De}	0/22 ^{Ce}	0/186 ^{Ee}	0/186 ^{Ee}
65	1/67 ^{Af}	1/27 ^{Bf}	0/898 ^{Df}	0/917 ^{Cf}	0/694 ^{Ef}	0/694 ^{Ef}

در هر ردیف داده‌هایی که با حروف بزرگ لاتین یکسان مشخص شده‌اند، بر اساس آزمون LSD با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند. در هر ستون داده‌های نمودار که با حروف کوچک لاتین یکسان مشخص شده‌اند، بر اساس آزمون LSD با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

داده‌های حاصل از این آزمون، با مدل‌های کاسون، الیس، بینگهام، استوالد، هرشل بالکی، نیوتنی، کراس و کارا برازش شد. بر اساس معیار ضریب تبیین (R^2) و جذر میانگین مربع خطاها (RMSE) می‌توان بیان کرد که مدل نیوتنی و بینگهام دارای بهترین برازش با داده‌های آزمایشگاهی تنش - کرنش به‌دست آمده برای نمونه کنترل با بریکس 7، و نمونه‌ها با بریکس 25 و 35 بودند. پارامترهای این دو مدل در جدول 3 گزارش شده است.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، ویسکوزیته نیوتنی و بینگهام با افزایش بریکس افزایش یافته است ($p < 0/05$). کاهش سرم و افزایش غلظت در ذرات فاز پراکنده می‌تواند موجب افزایش سطح تماس بین ذرات شده و اثرات متقابل بین آنها را افزایش دهد. اما میان تنش تسلیم بینگهام نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p < 0/05$). موادی که دارای تنش تسلیم هستند در نرخ‌های برشی پایین‌تر از تنش تسلیم خاص خود، سخت هستند در حالی که در مقادیر بالاتر آن تنش تسلیم، به‌عنوان یک سیال پاورلا هستند (Rao, 2014). مقادیر بالاتر تنش تسلیم نشان می‌دهد که سیال رفتار شبه‌ژل دارد. یعنی ماده قبل از جریان یافتن نیاز به تخریب ژل دارد. چنین چیزی در مواد غذایی مانند کچاپ و مارگارین مشاهده شده است (Zhong and

داده‌های ویسکوزیته در نرخ برشی پایین (0/05) ابزار مناسبی برای مطالعه پایداری سیستم‌های کلوئیدی در حالت ساکن است (عالم‌زاده و همکاران، 1388). در هر دو روند، افزایش قابل ملاحظه ویسکوزیته در بریکس 55 و 65 نسبت به 25، 35 و 45 مشاهده شد. بنابراین، در نمونه‌های با بریکس بالا در نتیجه بالا بودن ویسکوزیته ظاهری فاز پیوسته، دو فاز شدن به تاخیر افتاده و بنابراین پایداری بیشتر است. از مقادیر ویسکوزیته ظاهری در نرخ‌های برشی میانی (52/7) برای مطالعه ارزیابی حسی و احساس دهانی استفاده می‌شود (عالم‌زاده و همکاران، 1388). در این نرخ برشی نیز، در هر دو روند، افزایش قابل ملاحظه ویسکوزیته در بریکس 55 و 65 نسبت به 25، 35 و 45 مشاهده شد. داده‌های ویسکوزیته در نرخ‌های برشی بالا برای طراحی فرآیندهایی که در آنها نرخ‌های برشی بالا ایجاد می‌شود نظیر محاسبه توان همزن، پمپ، نازل‌ها و فرآیندهایی که شرایط آنها تابع جریان سیال در لوله است (مانند استریلیزاسیون و پاستوریزاسیون) استفاده می‌شود (عالم‌زاده و همکاران، 1388). بنابراین از افزایش ویسکوزیته با افزایش بریکس می‌توان نتیجه گرفت، نمونه‌های با بریکس 65 و سپس 55 مقاومت بالاتری را در برابر فرآیندهایی که در آنها نرخ برشی بالا ایجاد می‌شود، نشان می‌دهند.

(Daubert, 2013). اما تنش تسلیم مشاهده شده در این نمونه‌ها بسیار پایین بوده و می‌تواند نشانگر رفتار ویسکوز در آنها باشد. نمونه‌های با بریکس 45، 55 و 65 بخوبی با مدل هرشل بالکی و کراس (از نرخ برشی صفر تا 300) برازش شدند. پارامترهای حاصل از این دو مدل در جدول 4 و 5 ارائه شده است

جدول 3- میانگین پارامترهای حاصل از برازش مدل‌های نیوتنی و بینگهام بر نمونه‌های با بریکس 7، 25 و 35

بریکس	ویسکوزیته نیوتنی (Pa.s)	R ²	RMSE	ویسکوزیته بینگهام (Pa.s)	تنش تسلیم بینگهام (Pa)	R ²	RMSE
7	0/0014308 ^a	0/993	0/037	0/0013975 ^a	0/000046813 ^a	0/996	0/031
25	0/006324 ^b	0/939	0/125	0/0060844 ^b	0/000029426 ^a	0/960	0/112
35	0/013227 ^c	0/926	0/188	0/012724 ^c	0/000055127 ^a	0/951	0/169

میانگین‌هایی که با حروف کوچک یکسان نشان داده شده‌اند، بر اساس آزمون LSD در سطح 0/05 با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول 4- میانگین پارامترهای حاصل از برازش مدل هرشل بالکی بر نمونه‌های با بریکس 45، 55 و 65

بریکس	تنش تسلیم (Pa)	ضریب قوام (pa.s ⁿ)	اندیس جریان (بدون بعد)	R ²	RMSE
45	0/00012 ^a	0/0327 ^a	0/96 ^a	0/999	0/110
55	0/00125 ^b	0/297 ^b	0/91 ^b	0/999	0/251
65	-0/00056 ^c	1/30 ^c	0/91 ^b	0/984	1/048

میانگین‌هایی که با حروف کوچک یکسان نشان داده شده‌اند، بر اساس آزمون LSD در سطح 0/05 با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول 5- میانگین پارامترهای حاصل از برازش مدل کراس بر نمونه‌های با بریکس 45، 55 و 65

بریکس	P (بدون بعد)	C (s)	ویسکوزیته در نرخ برشی صفر (Pa.s)	ویسکوزیته در نرخ برشی بی‌نهایت (Pa.s)	R ²	RMSE
45	0/01 ^a	2125/1 ^a	0/01732 ^a	0/018459 ^a	0/987	0/025
55	0/01 ^a	2892/7 ^b	0/04383 ^b	0/062777 ^b	0/935	0/128
65	0/2394 ^b	0/058088 ^c	2/104 ^c	8/2913×10 ^{-8c}	0/997	0/060

میانگین‌هایی که با حروف کوچک یکسان نشان داده شده‌اند، بر اساس آزمون LSD در سطح 0/05 با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

کاهش یافت (Goula and Adamopoulos, 2012). با استفاده از مدل کراس، مقادیر ویسکوزیته در نرخ‌های برشی بی‌نهایت و صفر بدست آمد. با افزایش بریکس مقادیر ویسکوزیته در نرخ برشی صفر افزایش یافت. مقادیر ویسکوزیته در نرخ‌های برشی بی‌نهایت، برای نمونه با بریکس 65 بسیار کوچک است. افزایش ویسکوزیته در نرخ‌های برشی بی‌نهایت و صفر در مدل کراس با افزایش بریکس را می‌توان به افزایش در غلظت پکتین و همچنین حضور قند نسبت داد. افزایش ویسکوزیته در نرخ برشی پایین در مدل کراس می‌تواند به اثرات متقابل بین ذرات کوچک در نتیجه نیروهای واندروالسی و یا نیروهای الکترواستاتیک بین پکتین با بار منفی و پروتئین با بار مثبت باشد. در حالیکه در نرخ‌های برشی بالا نیروهای هیدرودینامیک بر رئولوژیکی سیال موثر می‌شود (do Nascimento et al., 2016). با بررسی ساختار در طی کاهش نرخ برشی از 300 به صفر، نمونه کنترل به مقدار جزئی رفتار رئوپکتیک نشان داد (-0/29 Pa/s). میزان هیسترسیس Pa/s 0/67، 0/09، 1/76، 50/41 و 310/47 به ترتیب در بریکس‌های 25، 35، 45، 55 و 65 بدست آمد (p<0/05). با توجه به میزان کم هیسترسیس در بریکس‌های پایین، ویسکوزیته این

مدل هرشل بالکی، با وجود ضریب تبیین بالا، جذر میانگین خطای بالاتری نسبت به مدل کراس داشته است. علاوه بر این، پارامتر تنش تسلیم برای نمونه با بریکس 65 منفی بوده است که از لحاظ رئولوژیکی بی‌معنی است. بنابراین مدل هرشل بالکی مدل مناسبی نیست. بنابراین می‌توان مدل کراس را بخاطر داشتن ضریب تبیین بالا، جذر میانگین خطا پایین و پارامترهای با مفهوم، مدل برتر برای نمونه‌ها با بریکس 45، 55 و 65 معرفی کرد. در بررسی رفتار رئولوژیکی کنسانتره آب انبه در غلظت‌های مختلف مواد جامد % 26-7/6، نیز نمونه‌ها رفتار رقیق‌شونده با برش را نشان دادند (Dak et al., 2007). رفتار غیرنیوتنی رقیق‌شونده با برش در کنسانتره آب پوملو نیز گزارش شده است و با افزایش غلظت رفتار رقیق‌شوندگی با برش افزایش یافت (Chin et al., 2009). همچنین، در بررسی خواص رئولوژیکی آب نارنج نیز نتایج نشان داده شد، با افزایش غلظت ویسکوزیته نمونه‌ها افزایش می‌یابد و نمونه‌ها رفتار رقیق‌شوندگی با برش را از خود نشان می‌دهند (نصیری و همکاران، 1393). در بررسی خواص رئولوژیکی کنسانتره کیوی در غلظت‌های مختلف نیز نمونه‌ها رفتار رقیق‌شوندگی با برش داشتند و ویسکوزیته با کاهش مواد جامد

بود. اما در مطالعات Giacomazza و همکاران (2016) در سیستم‌های حاوی 0/5 درصد پکتین، مدول الاستیک افزایش بیشتری را نسبت به مدول ویسکوز نشان داد. آنها مشاهده نمودند، در هر فرکانسی مقدار مدول الاستیک در آغاز کمتر از مدول ویسکوز بوده است اما با سرعت بیشتر از مدول ویسکوز افزایش می‌یابد. هر دو مدول با گذشت زمان به یک نقطه تلاقی رسیده و سرانجام به یک مقدار مستقل از فرکانس می‌رسد.

در مطالعه حاضر، به دلیل بالاتر بودن مدول ویسکوز از مدول الاستیک در کل دامنه فرکانس مورد مطالعه هیچ مدرکی برای تشکیل ژل وجود ندارد. آلیمو حاوی مقدار زیادی پکتین است. پکتین، پلی‌ساکاریدی هتروژن و منشعب است. پکتین با متوکسیل بالا در pH اسیدی تنها در حضور مقدار زیادی ساکارز یا دیگر کمک حلال‌ها تشکیل شبکه سه‌بعدی می‌دهد و مکانیسم ژله‌ای شدن آن هنوز به‌طور کامل درک نشده است (do Nascimento *et al.*, 2016). pH نقش بحرانی را در صورت‌بندی پکتین بازی می‌کند. از طرفی بار منفی پکتین باعث می‌شود در حالت اسیدی ساختار باز شود و از طرف دیگر در حالت اسیدی هیدرولیز در پلی‌ساکاریدها رخ می‌دهد. احتمالاً ناتوانی برای تشکیل شبکه بخاطر سیالیت مولکولی در ماتریکس شبکه است (do Nascimento *et al.*, 2016). در واقع به علت پایین بودن غلظت پکتین و ساکارز در بریکس‌های پایین، ژل تشکیل نشده اما با افزایش بریکس که مطابق با آن غلظت پکتین و ساکارز بیشتر می‌شود، توانایی برای تشکیل ژل بیشتر می‌شود. اگرچه در هیچ‌کدام از نمونه‌ها ژل تشکیل نشد.

وابستگی مدول ویسکوز به فرکانس در دامنه 0/161 هرترز تا 117 هرترز، در سه نمونه با بریکس 55، 45 و 65، به‌خوبی با مدل قانون توان برازش شدند. نتایج در جدول 6 گزارش شده است.

ضریب a با افزایش بریکس افزایش و ضریب b با افزایش بریکس از 45 به 55 افزایش و با افزایش بریکس از 55 به 65 کاهش یافت ($p < 0/05$). پارامتر a به ثابت معادله و پارامتر b به توان فرکانس (هر چقدر توان فرکانس کمتر باشد، مقدار مدول ویسکوز به‌صورت کندتری با افزایش فرکانس افزایش می‌یابد) اشاره می‌کند (Wang *et al.*, 2009). طبق شکل 2، افزایش بریکس موجب افزایش مدول ویسکوز شده است و بنابر جدول 6، با افزایش بریکس پارامتر a افزایش و پارامتر b کاهش می‌یابد که می‌تواند به افزایش غلظت پکتین نسبت داده شود. مشاهده ما مشابه نتایج Wang و همکاران (2009) بوده است. آنها گزارش کردند، افزودن هیدروکلئید زانتان مقادیر پارامتر b را به‌طور واضحی کاهش می‌دهد. آنها نتیجه گرفتند، مقادیر مدول ویسکوز با افزایش فرکانس به‌طور کندتری با افزودن صمغ زانتان افزایش می‌یابد. گفته شده است با افزایش غلظت قند، مقدار b افزایش می‌یابد. در واقع با افزایش قند سوکروز، خصوصیت جامد مانند (Solid like) و پایداری کاهش می‌یابد

نمونه‌ها بین شکل افزایش نرخ برشی و کاهش نرخ برشی تفاوت زیادی نداشت. بریکس‌های بالاتر (55 و 65) میزان هیسترسیس بیشتری داشته‌اند. افزایش میزان ناحیه هیسترسیس نشان‌دهنده افزایش میزان وابستگی به زمان است. بنابراین، نمونه‌ها در بریکس‌های بالاتر رفتار تیکسوتروپی بیشتری نشان داده‌اند. رفتار تیکسوتروپی ممکن است به دلیل ساختار داخلی آب‌میوه که توسط برهمکنش‌های فیزیکی بین مواد جامد محلول، قندها و خصوصاً پروتئین‌ها تشکیل شده است، باشد. برخی محققین دیگر نیز رفتار تیکسوتروپی کنسانتره کیوی (Goula and Adamopoulos, 2012)، کران بری (Peleg and Noble, 1999) و پالپ گوجه‌فرنگی (Abu-Jdauyil *et al.*, 2004) را گزارش نمودند.

آزمون روبش کرنش

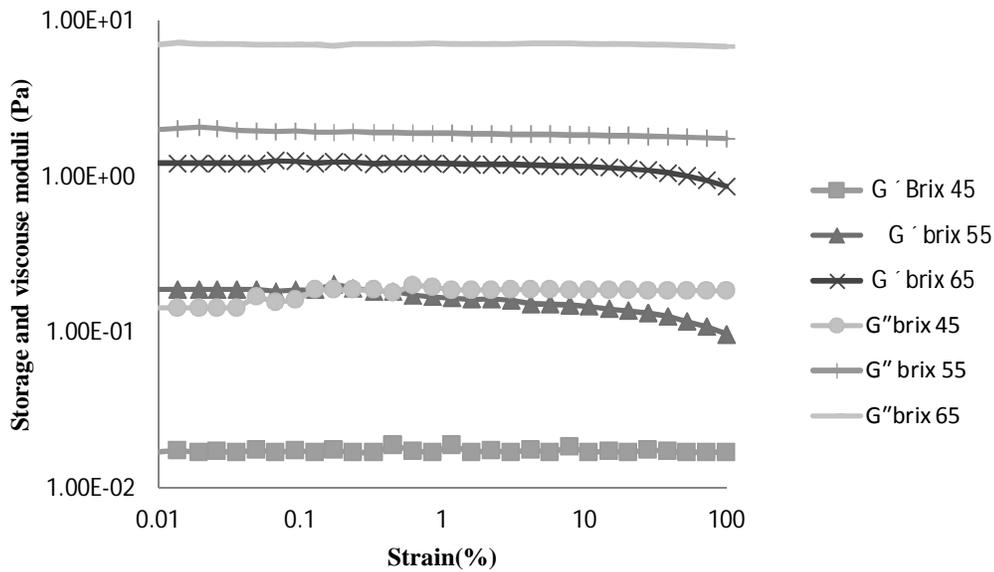
طبق شکل 1 با افزایش بریکس مقادیر هر دو مدول ویسکوز و الاستیک افزایش یافت ($p < 0/05$). در واقع می‌توان گفت با افزایش بریکس خصوصیت ویسکوالاستیسیته افزایش می‌یابد. تقریباً برای کلیه نمونه‌ها، مقادیر مدول الاستیک و ویسکوز در دامنه کرنش 0/01 تا 100 % ثابت بوده است. از طرف دیگر مقادیر ویسکوز در کلیه نمونه‌ها بیشتر از مقادیر الاستیک بوده است که نشان‌دهنده این است کنسانتره لیمو یک مایع ویسکوالاستیک (مقدار فاکتور میرایی بیشتر از 1) است.

آزمون روبش فرکانس

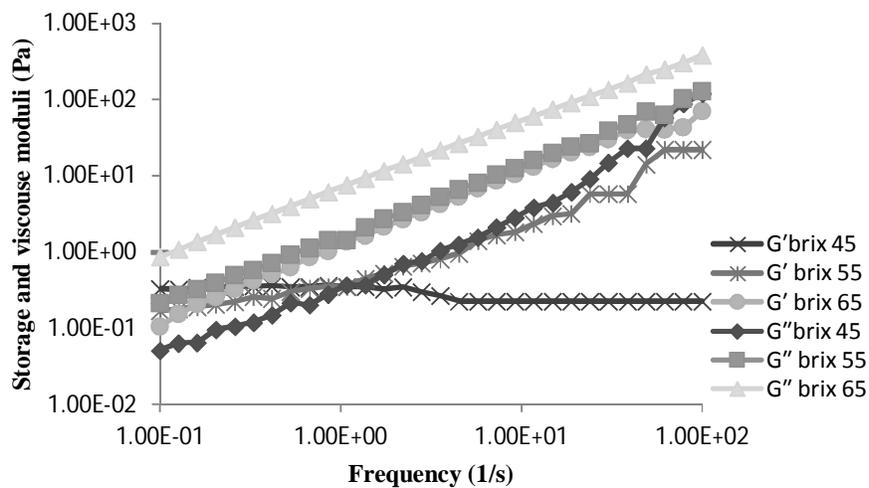
آزمون نوسانی برای مطالعه پایداری نمونه‌ها در روش غیرمخرب انجام شد (شکل 2). این تکنیک اطلاعات مفیدی برای توسعه شبکه و تغییرات میکروساختار در طول زمان ارائه می‌دهد. در تمامی محدوده فرکانس مورد آزمون، مقادیر مدول ویسکوز بالاتر از الاستیک بود. در نمونه‌ها با بریکس 55 و 65، هر دو مدول الاستیک و ویسکوز تابع فرکانس بوده و با افزایش فرکانس مقادیر آنها افزایش می‌یابد ($p < 0/05$). همچنین در محدوده فرکانس مورد مطالعه هیچ برخوردی میان دو مدول دیده نشد.

این رفتار از لحاظ رئولوژیکی به‌عنوان یک ماده رقیق شناخته می‌شود. یک راه برای تشخیص دیسپرسیون پایدارتر، مقایسه مدول الاستیک در فرکانس‌های بالاست. نمونه با بریکس 65 مدول الاستیک بیشتری در فرکانس‌های بالا داشته است. در مطالعه Giacomazza و همکاران (2016) نشان داده شد، در فرکانس ثابت مقادیر مدول ویسکوز و الاستیک با افزایش غلظت پکتین افزایش می‌یابد. علاوه بر این در مطالعه آنها مشخص شد که با افزایش غلظت پکتین، مقدار مدول‌ها با افزایش فرکانس بیشتر می‌شود. در مطالعه حاضر، نسبت افزایش مدول ویسکوز بیشتر از مدول الاستیک

(Wang *et al* 2009). بنابراین علت اصلی کاهش مقدار b با افزایش بریکس، افزایش غلظت پکتین است.



شکل 1- وابستگی مدول ویسکوز و الاستیک به کرنش در نمونه‌ها با بریکس 45، 55 و 65



شکل 2- وابستگی مدول الاستیک و ویسکوز به فرکانس در نمونه‌های با بریکس 45، 55 و 65

جدول 6- میانگین پارامترهای a و b حاصل از برازش قانون توان بر مقادیر مدول ویسکوز در دامنه فرکانس مورد مطالعه

بریکس	ضریب a	ضریب b	R ²	RMSE
45	0/026122 ^a	1/0296 ^a	0/972	0/211
55	0/28379 ^b	0/92386 ^b	0/990	0/327
65	1/3846 ^c	0/88526 ^c	0/999	0/274

میانگین‌هایی که با حروف کوچک یکسان نشان داده شده اند، بر اساس آزمون LSD در سطح 0/05 با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

می‌تواند به افزایش غلظت پکتین نسبت داده شود. Wang و همکاران نیز در سال 2009 به افزایش ثابت a با افزودن صمغ زانتان در نتیجه

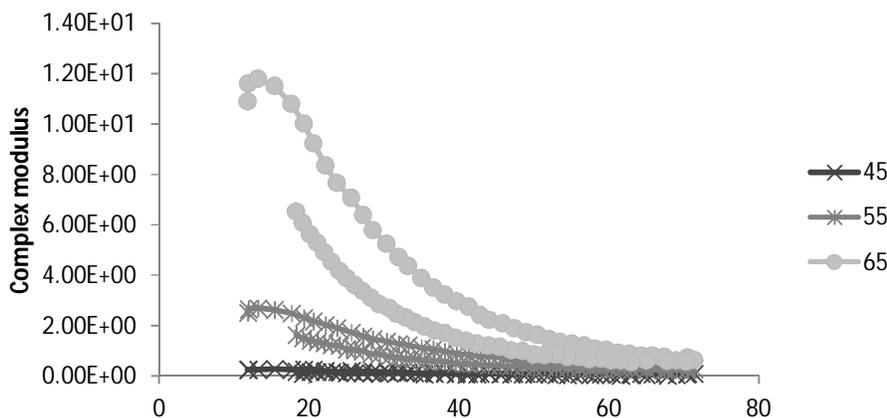
افزایش ضریب a با افزایش بریکس نشان می‌دهد که وابستگی مدول ویسکوز به فرکانس با افزایش بریکس، افزایش می‌یابد که

مجدداً افزایش یافت که نشان می‌دهد، مجدداً پیوندهای بین مولکولی تقویت می‌شوند. تغییر شیب، برای نمونه با بریکس 65 بیشتر بود. مدول الاستیک بیشتر از مدول ویسکوز تحت تاثیر حرارت قرار گرفت. مقادیر مدول ویسکوز نیز در کل دامنه دمایی مورد مطالعه برای نمونه 65 بیشتر بوده و نمونه‌ها با بریکس 55 و 45 به ترتیب در مراتب بعدی قرار داشتند. شیب نمودار مدول ویسکوز نیز برای نمونه 65 بیشتر و برای نمونه 45 کمتر بود ($p < 0/05$) طبق شکل‌های 3 و 4، در کل دامنه دمایی مورد مطالعه، مدول کمپلکس و ویسکوزیته کمپلکس به ترتیب در نمونه 65، 55 و 45 بیشتر بود ($p < 0/05$).

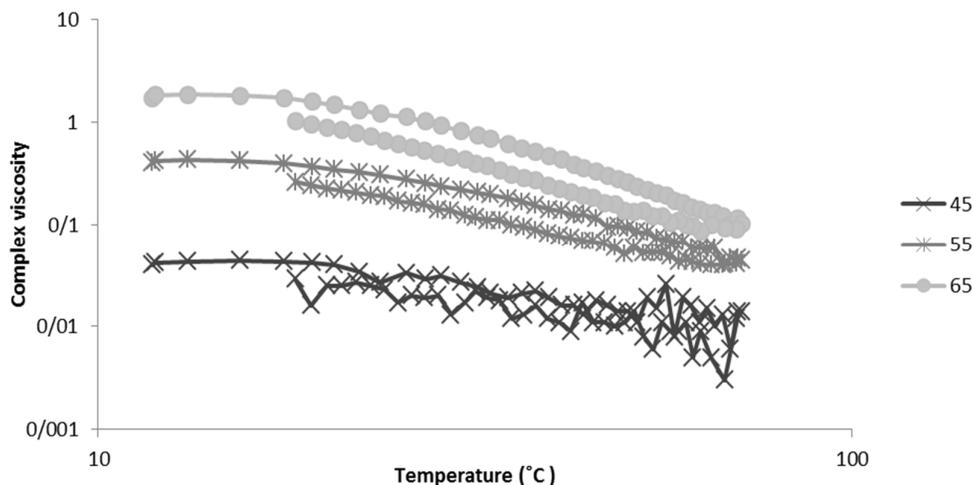
افزایش در استحکام فاز پیوسته سیستم به خاطر اثر غلیظ‌کنندگی صمغ زانتان اشاره نمودند.

آزمون روبش دما

در کل دامنه دمایی مورد مطالعه ویژگی ویسکوز برجسته‌تر از ویژگی الاستیک بود. نمودارهای مربوطه نشان داده نشده‌اند. در طول تیمار حرارتی تغییرات ساختاری رخ داد. در دماهای بالاتر مقادیر مدول الاستیک و ویسکوز به یکدیگر نزدیک شدند. شیب نمودار مدول الاستیک در طی افزایش دما کاهش و سپس در طی کاهش دمایی



شکل 3- وابستگی مدول کمپلکس به دما در نمونه‌ها با بریکس 45، 55 و 65



شکل 4- وابستگی ویسکوزیته کمپلکس به دما در نمونه‌ها با بریکس 45، 55 و 65

افزایش در انرژی حرارتی مولکول‌ها و انبساط را در پی دارد و در نتیجه موجب افزایش فاصله بین مولکولی و کاهش نیروی بین مولکولی می‌شود (Arslan et al., 2005). بنابراین، ویژگی ویسکوالاستیسیته و همچنین ویسکوزیته کمپلکس کاهش می‌یابد.

شیب تغییرات در نمونه 65 بیشتر و در نمونه 45 کمتر بود. با افزایش دما مقدار هر دو پارامتر کاهش یافت. کاهش هر دو مدول و ویسکوزیته کمپلکس با افزایش دما نشان‌دهنده این است که با افزایش دما مقاومت ماده به جریان کاهش می‌یابد. افزایش در دما،

مشخص شد، نمونه‌ها رفتار مایع ویسکوالاستیک دارند و از آنجا که با افزایش فرکانس مقادیر هر دو مدول ویسکوز و الاستیک افزایش یافت ولی هیچ برخوردی در کل دامنه فرکانس مشاهده نشد، ماده رقیق بوده است و ژلی تشکیل نشده است. در کل دامنه دمایی مورد مطالعه، نمونه با بریکس 65 بیشترین و نمونه با بریکس 45 کمترین مقادیر مدول کمپلکس، مدول ویسکوز و الاستیک و ویسکوزیته کمپلکس را دارا بود. با افزایش دما مقدار هر چهار پارامتر کاهش یافت. با افزایش بریکس مقدار ناحیه بازگشت ساختار در طی کاهش دما، افزایش می‌یابد. یعنی ساختار نسبت به نمونه اولیه در طی کاهش دما ضعیف‌تر شد. این اطلاعات رئولوژیکی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی می‌تواند در افزایش مقیاس و بهینه‌سازی فرآیند، حمل و نقل و نگهداری کنسانتره لیمو به جهت کاربردهای تجاری مهم باشد.

با افزایش بریکس، مساحت حلقه هیسترسیس تشکیل شده بین تخریب ساختار در طی افزایش دما و تشکیل مجدد ساختار در طی کاهش دما، افزایش می‌یابد (شکل 3). یعنی توانایی در بازگشت ساختار در طی کاهش دما، با افزایش بریکس، کاهش یافت. بنابراین، می‌توان گفت، اگرچه مدول ویسکوز و الاستیک در طی کاهش دما نیز برای نمونه با بریکس 65 بیشتر از نمونه‌ها با بریکس 55 و 45 بود اما توانایی در بازیافت ساختار برای نمونه با بریکس 65 کمتر از دو نمونه دیگر بود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد، کنسانتره نمونه با بریکس 25 و 35 همانند نمونه کنترل رفتار نیوتونی دارند. اما نمونه‌ها با بریکس 45، 55 و 65 رفتار رقیق‌شونده با برش و تیکسوتروپ دارند. این نمونه‌ها برازش خوبی با مدل کراس داشتند. همچنین در آزمون نوسانی

منابع

- Abu-Jdayil, B., Banat, F., Jumah, R., Al-Asheh, S., & Hammad, S. 2004. A comparative study of rheological characteristics of tomato paste and tomato powder solutions. *International Journal of Food Properties*, 7(3), 483-497.
- Alemzadeh, T., Mohammadifar, M.A., Azizi, M.H., & Ghanati, K. 2009. Effect of two different species of Iranian gum tragacanth on the rheological properties of mayonnaise sauce (65 % fat) [dissertation]. Tehran: The International & Virtual Branch of ShahidBeheshti University of Medical Sciences & Health Services, [in Persian].
- Arslan, E., Yener, M. E., & Esin, A. 2005. Rheological characterization of tahin/pekmez (sesame paste/concentrated grape juice) blends. *Journal of Food Engineering*, 69(2), 167-172.
- Augusto, P. E., Ibarz, A., & Cristianini, M. 2012. Effect of high pressure homogenization (HPH) on the rheological properties of a fruit juice serum model. *Journal of Food Engineering*, 111(2), 474-477.
- Avila, I. M. L. B., & Silva, C. L. M. 1999. Modelling kinetics of thermal degradation of colour in peach puree. *Journal of food engineering*, 39(2), 161-166.
- Awolu, O. O., Aderinola, T. A., & Adebayo, I. A. 2013. Physicochemical and Rheological Behavior of African Star Apple (*Chrysophyllum Albidum*) Juice as Affected by Concentration and Temperature Variation. *Journal of Food Processing & Technology*, 2013, 4, 1-6.
- Braccini, L., Rodríguez-Carvajal, M. A., & Pérez, S. 2005. Chain-chain interactions for methyl polygalacturonate: models for high methyl-esterified pectin junction zones. *Biomacromolecules*, 6(3), 1322-1328.
- Caristi, C., Bellocco, E., Panzera, V., Toscano, G., Vadala, R., & Leuzzi, U. 2003. Flavonoids detection by HPLC-DAD-MS-MS in lemon juices from Sicilian cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(12), 3528-3534.
- Chin, N. L., Chan, S. M., Yusof, Y. A., Chuah, T. G., & Talib, R. A. 2009. Modelling of rheological behaviour of pummelo juice concentrates using master-curve. *Journal of Food Engineering*, 93(2), 134-140.
- Dak, M., Verma, R. C., & Jaaffrey, S. N. A. 2007. Effect of temperature and concentration on rheological properties of "Kesar" mango juice. *Journal of Food Engineering*, 80(4), 1011-1015.
- Do Nascimento, G. E., Simas-Tosin, F. F., Iacomini, M., Gorin, P. A. J., & Cordeiro, L. M. 2016. Rheological behavior of high methoxyl pectin from the pulp of tamarillo fruit (*Solanum betaceum*). *Carbohydrate polymers*, 139, 125-130.
- Khalili Garakani, A.H., Mostoufi, N., Sadeghi, F., Hosseinzadeh, M., Fatourehchi, H., Sarrafzadeh, M.H., & Mehrnia, M.R. 2011. Comparison between different models for rheological characterization of activated sludge. *Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 8(3), 255-264.
- Giacomazza, D., Bulone, D., San Biagio, P. L., & Lapsin, R. 2016. The complex mechanism of HM pectin self-assembly: A rheological investigation. *Carbohydrate polymers*, 146, 181-186.
- Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. 2012. Rheological models of kiwifruit juice for processing applications. *Journal of Food Processing & Technology*, 2, 1-7.
- Gratão, A. C. A., Silveira, V., & Telis-Romero, J. 2006. Laminar forced convection to a pseudoplastic fluid food in

- circular and annular ducts. *International communications in heat and mass transfer*, 33(4), 451-457.
- Ibarz, A., Pagan, J., Gutierrez, J., & Vicente, M. 1989. Rheological Properties of Clarified Pear Juice Concentrates. *Journal of Food Engineering*, 10, 57-63.
- ISIRI.1999, Fruit juices – Test methods. ISIRI no 2685. 1st.revision. Karaj,. Iran [in Persian].
- Jesus, D. F., Leite, M. F., Silva, L. F. M., Modesta, R. D., Matta, V. M., & Cabral, L. M. C. 2007. Orange (*Citrus sinensis*) juice concentration by reverse osmosis. *Journal of Food Engineering*, 81(2), 287-291.
- Kimball, D., Parish, M.E., & Braddock, R. 2004. Oranges and tangerines. In: *Processing Fruits*. CRC Press, USA, 619-641.
- Lozano, J.E. 2006. Chemical composition of fruits and its technological importance. In: *Fruit Manufacturing*. Springer, USA, 133–161.
- Magerramov, M. A., Abdulagatov, A. I., Azizov, N. D., & Abdulagatov, I. M. 2007. Effect of temperature, concentration, and pressure on the viscosity of pomegranate and pear juice concentrates. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 476-489.
- Martinez, M. V., & Whitaker, J. R. 1995. The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends in Food Science & Technology*, 6(6), 195-200.
- Nasiri, M., Farahnaky, A., Niakousari, M., Majzoobi, M., & Masbahi, Gh. 2014. Evaluation of processing condition on physicochemical properties and flow behavior of sour orange juice concentrate. *Iranian Journal of Food Research*, 24 (2): 155-166 [in Persian].
- Peleg, H., & Noble, A. C. 1999. Effect of viscosity, temperature and pH on astringency in cranberry juice. *Food quality and preference*, 10(4), 343-347.
- Ranganna, S., Govindarajan, V. S., Ramana, K. V. R., & Kefford, J. F. (1983). Citrus fruits—Varieties, chemistry, technology, and quality evaluation. Part II. Chemistry, technology, and quality evaluation. A. Chemistry. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 18(4), 313-386.
- Rao, M.A. 2014. Flow and functional models for rheological properties of fluid foods. In *Rheology of Fluid, Semisolid, and Solid Foods*. Springer, US, 27-61.
- Rattanathanalerk, M., Chiewchan, N., & Srichumpoung, W. 2005. Effect of thermal processing on the quality loss of pineapple juice. *Journal of Food engineering* 66(2), 259-265.
- Sharma, S. K., LeMaguer, M., Liptay, A., & Poysa, V. 1996. Effect of composition on the rheological properties of tomato thin pulp. *Food Research International*, 29(2), 175-179.
- Touhami, M., Laroubi, A., Elhabazi, K., Loubna, F., Zrara, I., Eljahiri, Y., & Chait, A. 2007. Lemon juice has protective activity in a rat urolithiasis model. *BMC urology*, 7(1), 1-10.
- Wang, B., Wang, L-J., Li, D., Özkan, N., Li, S-J., & Mao, Z-H. 2009. Rheological properties of waxy maize starch and xanthan gum mixtures in the presence of sucrose. *Carbohydrate Polymers*, 77(3),472-81.
- Williams, PA. & Phillips, GO.2000. Introduction of food hydrocolloids. In: *Hand book of food hydrocolloids*. CRC Press, Cambridge, 1-22.
- Zargari, A.1989. Medicinal Plants. University of Tehran Press, Iran, 1,488.
- Zhong Q, & Daubert C R.2013. Food rheology. In :Handbook offarm, dairy and food machinery engineering. *Academic Press*, New York, 403–426.

Effect of concentration on the rheological and physicochemical properties of lemon juice

A. Motamedzadegan^{1*}, E. Omidbakhsh Amiri², M. Jamshidi², T. Khosravi rad³

Received: 2016.10.08

Accepted: 2017.05.08

Introduction: In industrial operations, a product is submitted to a range of shear rates. The knowledge of the changes in rheology with temperature, frequency and shear rate is needed to design the equipment of operations. The lemon juice is used extensively in the food industry. Information about rheological and physicochemical properties is important for scale up and optimization of processes such as transport and storage of concentrated lemon in commercial applications. The aim of this study was to evaluate the rheological and physicochemical properties of the concentrated lemon produced using vacuum evaporator.

Materials and Methods: Lemon juice was concentrated to 25, 35, 45, 55 and 65 Brix by a rotary evaporator under vacuum at 65°C. The content of soluble solids in terms of brix using refractometer, pH, acidity in terms of citric acid, color in terms of a*, b* and L*, flow behavior and viscoelasticity as function of strain, frequency and temperature using rheometer were investigated. Mean comparison carried out using the least significant difference.

Results&Discussion: As brix increased, pH reduced and acidity increased. An increase in the concentration resulted in a decrease in L* and b* parameters and an increase in a* parameter. Enzymatic browning in this study could be ignored due to the sensitivity of enzymes to temperatures above 50°C. Millard's non-enzymatic browning (formation of hydroxyl methyl furfural and its polymerization) and the degradation of pigments might be a major contributor to color variation, although a decrease in moisture content and an increase in soluble solids are other reasons for darkening of color. Based on coefficient of determination (R²) and root mean square error (RMSE), we could state that the Newtonian and Bingham models had the best fit with laboratory data of the stress-strain obtained for the control sample with the 7Brix, and the samples with 25 and 35 Brix. Newtonian and Bingham viscosity increased as brix increased (p<0.05). However, the observed yield stress in these samples is very low and can be indicative of their viscous behavior. Herschel-Bulkley model, despite it had the high R², had a higher RMSE than the cross model. In addition, the yield stress for the sample with 65 brix was a negative number, which is meaningless rheologically. Therefore, the Herschel-Bulkley model is not a suitable model. Therefore, the cross model with high R², low RMSE and concept parameters was superior model for samples with 45, 55 and 65 brix. Using cross model, viscosity values were obtained at infinite and zero shear rates. As brix increased, viscosity values increased at zero shear rates. The viscosity values at infinite shear rates were very small in 65 brix. The increase in viscosity at infinite and zero shear rates with increasing of brix can be attributed to an increase in pectin concentration and also the presence of sugar. Increasing in viscosity at low shear rates in the cross model can be due to interactions between small particles as a result of van der Waals forces or electrostatic forces between negatively charged pectins and positively charged proteins. At high shear rates, hydrodynamic forces are effective on the rheological fluid. The area of the hysteresis ring was very small in samples with low brix. Higher brixes (55 and 65) indicated higher hysteresis. Increasing in the hysteresis indicates an increase in the time dependence. Therefore, samples showed higher thixotropic behavior in higher brixes. Thixotropic behavior may be due to the internal structure of juice that is formed by physical interactions between soluble solids, sugars and proteins. In strain sweep, with increasing of the brix, the values of both viscous and elastic modules increased (p<0.05). In frequency and strain sweep, viscose modulus was greater than the elastic modulus and was not observed any crossover between them. This behavior is an indicative of dilute material. In acidic state, hydrolysis of polysaccharides is a barrier in formation of a network due to molecular

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran. Po Box 578.
 2. PhD student of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran. Po Box 578.
 3. M.S. In Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University
- (*Corresponding Author Email: amotgan@yahoo.com)

fluidity in the matrix. In fact, due to the low concentration of pectin and sucrose in the low brixes, the gel is not formed, but with the increase of the brix, which increases the concentration of pectin and sucrose, the ability in formation of gel increased. However, no gel was formed in any of the samples. The dependence of the viscous modulus on the frequency in the range of 161 0 Hz to 117 Hz, in three samples with 45, 55 and 65 brix, fit well with the power law model. Model parameters showed the dependence of the viscous modulus on the frequency increased with increasing of brix, which can be attributed to an increase in the concentration of pectin. In total amplitude of temperature, viscose modulus was greater than the elastic modulus. Complex modulus and complex viscosity increased in samples as brix increased. Reducing of viscose and elastic modules and complex viscosity with increasing in temperature indicates that the material's resistance to flow decreases with increasing temperature. As the brix increased, the area of the hysteresis loop between the structural destruction and the formation of the structure increased. That is, the ability of the structure return decreased with increasing in brix during decreasing of temperature.

Keywords: Lemon juice, Physicochemical properties, Rheological properties

اثر فیلم بسته‌بندی نانوکامپوزیتی حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر خصوصیات حسی، میکروبی و شیمیایی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال

زینب نوری هاشم آباد¹ - بهاره شعبانپور^{2*} - حامد عزیزی³ - سید مهدی اجاق⁴ - علیرضا عالیشاهی⁵

تاریخ دریافت: 1395/08/04

تاریخ پذیرش: 1396/01/26

چکیده

پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر نانوکامپوزیت پلی‌اتیلن سبک حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در شرایط نگهداری در یخچال انجام پذیرفت. فیلم به روش مخلوط‌سازی مذاب تهیه شد. ماهی بسته‌بندی شده با ارزیابی‌های شیمیایی (پراکسید، تیوباریبوریوتیک اسید، بازهای نیتروژنی فرار و pH) میکروبی (باکتری‌های کل، سرمادوست، اسید لاکتیک و اینترو باکترها) و ارزیابی حسی (رنگ، بو، بافت و پذیرش کلی) در فواصل زمانی هر 4 روز یکبار تا روز 20 نگهداری در یخچال مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل نمونه‌ها تغییرات معنی‌داری را در ویژگی‌های مختلف طی زمان نگهداری نشان دادند ($p < 0/05$). مقادیر شاخص شیمیایی TBA در روز 20 نگهداری به 0/2 MDA/kg برای نمونه شاهد رسید که در نمونه نانوکامپوزیتی مقدار آن 0/12 mg MDA/kg بود. طی دوره نگهداری میزان PV و TVN افزایش یافت و در پایان دوره نگهداری در تیمار بسته‌بندی شده میزان هر دو کمتر از تیمار شاهد بود ($p < 0/05$). بیشترین مقدار pH 7/04 بود که در روز 20 نگهداری برای نمونه شاهد مشاهده شد و برای نمونه نانوکامپوزیتی به 6/31 رسید ($p < 0/05$). مقادیر بار میکروبی کاهش قابل ملاحظه‌ای در تیمار بسته‌بندی شده در مقایسه با شاهد نشان داد و همچنین نمونه‌ها از نظر ویژگی‌های حسی مطلوب و در تیمار شاهد تنها پس از گذشت 8 روز تغییرات غیرقابل قبولی را نشان دادند. بنابراین می‌توان عمر نگهداری ماهی قزل‌آلا را در بسته‌بندی نانوکامپوزیتی، 16-18 روز طی شرایط نگهداری در یخچال تعیین کرد.

واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی نانو، پلی‌اتیلن سبک، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، ماندگاری، ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مقدمه

فناوری در صنایع غذایی است. استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به دلیل خواص ضد میکروبی در بسته‌بندی مواد غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. دی‌اکسید تیتانیوم نانوذره غیرسمی است که سازمان غذا و داروی آمریکا⁷ استفاده از آن را در سطوح در تماس با مواد غذایی مورد تأیید قرار داده است. اثر ضد میکروبی و ضد قارچی این نانوذره در مورد طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها برای مثال، اشرشیاکلی⁸، استافیلوکوکوس اورئوس⁹، لاکتوباسیلوس هلوتیکوس⁹، انتروکوکوس فکالیس¹⁰، کلستریدیوم پرفرینجنز¹¹، سالمونلا انتریکا¹²، ویبریو پاراهمولیتیکوس¹³، لیستریامونوسیتوزنز¹⁴ و پنسیلیوم اگسپنسوم¹

فناوری نانو توسط کمیته ملی نانو آمریکا⁶ به صورت بررسی و مطالعه ذرات در مقیاس یک تا 100 نانومتر تعریف شده است. نانوتکنولوژی در حوزه‌های مختلف از پزشکی، داروسازی و بیوتکنولوژی تا الکترونیک، ارتباطات، حمل و نقل، انرژی، محیط زیست و صنایع غذایی کاربرد دارد. استفاده از علوم نانو در صنایع غذایی، تولید، فرآوری و حفظ و نگهداری محصولات به شدت رو به گسترش است. بسته‌بندی مواد غذایی از عمده‌ترین کاربردهای نانو

7 FDA

8 *Escherichia coli*

9 *Lactobacillus helveticus*

10 *Enterococcus faecalis*

11 *Clostridium perfringens*

12 *Salmonella enterica*

13 *Vibrio parahaemolyticus*

14 *Listeria monocytogenes*

1، 2، 4 و 5- به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد دانشیار و استادیار، گروه شیلات و فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران.

3- استادیار، گروه مهندسی پلیمر، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، تهران، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: b_shabanpour@yahoo.com)

DOI: 10.22067/iftstrj.v1396i0.59856

6 National Nanotechnology Initiative (NNI)

زیست نیز منجر می‌شوند. ماهی قزل‌آلای رنگین کمان یکی از پر مصرف‌ترین ماهیان پرورشی در کشور ایران می‌باشد که با توجه به تولید و مصرف بالای این ماهی انجام اقدامات لازم جهت حفظ کیفیت و افزایش زمان ماندگاری آن ضرورت می‌یابد. به‌طور کلی در مطالعات انجام شده، تحقیقات اندکی در مورد اثر بسته‌بندی نانوکامپوزیتی حاوی نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم بر ماندگاری محصولات غذایی به ویژه آبزیان انجام شده است، لذا این تحقیق به منظور بررسی تأثیر بسته‌بندی پلی اتیلن حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر خصوصیات کیفی و میزان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی شرایط نگهداری در یخچال انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه فیلم‌های پلی اتیلن سبک حاوی نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم
گرانول‌های پلی اتیلن سبک (LF 0200) با شاخص جریان ذوبی از پتروشیمی بندر امام خمینی خریداری گردید. نانوذرات (فاز آنتاز با خلوص 99/5٪، قطر 10-25 نانومتر) مورد استفاده در این تحقیق توسط شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان در مشهد تهیه شد. جهت تهیه فیلم مورد نظر ابتدا مسترچی از نانوذرات در بستر پلی‌اتیلن سبک توسط دستگاه اکسترودر دو مارپیچه مدل Brabender TSE 20 تهیه و سپس در اکسترودر تک مارپیچه (Venus Plastic Machinery Taiwan) رقیق و توسط فرایند فیلم دمشی به فیلم پلاستیکی تبدیل شد (Del Nobile et al, 2009).

آماده‌سازی ماهی

در این پژوهش، ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن متوسط 300-450 گرم و با طول متوسط 32-30 سانتی‌متر از مرکز فروش ماهی زنده خریداری و بلافاصله با یخ‌گذاری (با استفاده از یخ پودر شده با نسبت 1 به 1) در مخازن عایق (یونولیت‌های با اندازه متوسط) به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد. ماهی‌ها پس از شستشوی اولیه با آب شرب، سرزنی و تخلیه شکمی، فیله و مجدداً شستشو شدند. تیمار شاهد و تیمار دیگر شامل فیله‌های بسته‌بندی شده با پلی‌اتیلن حاوی 1٪ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بود که به روش معمولی بسته‌بندی گردیده هر بسته نانوکامپوزیتی شامل یک فیله و در تماس کامل با نانوکامپوزیت بوده، در نهایت هر دو تیمار به مدت 20 روز در یخچال نگهداری شدند.

آزمون‌های میکروبی نمونه‌ها

برای آزمایش‌های میکروبی، 10 گرم از نمونه گوشت فیله در شرایط استریل با 90 میلی لیتر محلول نمک طعام 0/85٪ مخلوط و

اگسپنوم¹ گزارش شده است. فعالیت ضد میکروبی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به دلیل تولید رادیکال‌های هیدروکسیل و گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد که منجر به اکسید کردن غشای فسفولیپیدی میکروارگانیسم‌ها می‌گردد (Saito et al, 1999). علاوه بر این نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم منجر به کاهش اکسیداسیون از طریق ممانعت از فعالیت پرتوهای فرابنفش می‌گردند. در میان پلیمرهای مصنوعی پلی اتیلن سبک به دلیل ارزانی، انعطاف‌پذیر بودن، مقاوم بودن به حرارت و بخار آب و ... بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Del Nobile et al, 2009; Marsh and Bugusu, 2007). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در پوشش‌های پلی اتیلن و پلی پروپیلن مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد این نانوذره علاوه بر کاهش اکسیداسیون محتوی بسته می‌تواند در کاهش سیلکل بازیابی پلی اتیلن و پلی پروپیلن در طبیعت موثر باشد (Manangan et al, 2010). اثر نانوکامپوزیت‌های دی‌اکسید تیتانیوم بر میزان بازماندگی باکتری‌های *Rhodotorula mucilaginosa* و *Pseudomonas spp* در میوه گلابی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از کاهش میزان این دو باکتری بود (Bodaghi et al, 2013) مطالعات مختلف نشان داد که میزان مهاجرت نانوذرات از بسته‌بندی به ماده غذایی بسیار ناچیز می‌باشد (Bott et al, 2014; Azeredo, 2009; Lorens et al, 2011). نانوکامپوزیت‌های حاوی نانوذرات نقره و اکسیدروی در بسته‌بندی گوشت جوجه میزان مهاجرت بسیار ناچیزی از خود نشان دادند (Panea et al, 2014). در مطالعه دیگری مهاجرت نانوتیتانیوم از بسته‌های پلی اتیلن به معرف‌های غذایی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد میزان مهاجرت نانوذره تیتانیوم به مواد غذایی جامد و مایع چندان قابل توجه نمی‌باشد (Lin et al, 2014). اثر نانوکامپوزیت‌های حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و نقره به لحاظ خواص ضدباکتریایی توسط Yu و همکاران (2011) مورد بررسی قرار گرفت. نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با قرار گرفتن در معرض تابش امواج ماورابنفش بار الکتریکی مثبت و منفی ایجاد می‌نمایند و باعث تجزیه شدن ترکیبات آلی و تولید مواد بی‌اثر یا کم‌خطر از قبیل دی‌اکسید کربن و آب می‌گردند. این خاصیت با عنوان فوتوکاتالیت بیان می‌شود که از نقطه نظر تجزیه پلاستیک‌ها در طبیعت و جذب آلاینده‌های محیطی در اثر تابش امواج ماورابنفش نور خورشید بسیار حائز اهمیت می‌باشد (Yu et al, 2003). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به دلیل خاصیت ضد میکروبی و ایفای نقش در کاهش اکسیداسیون و کاهش سیکل بازیابی پلی اتیلن، پلاستیک رایج مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی می‌توانند در افزایش زمان ماندگاری محصولات نقش مؤثری ایفا کنند ضمن اینکه به تولید بسته‌بندی سازگار با محیط

ارزیابی حسی

ارزیابی نمونه‌ها توسط 6 فرد ارزیاب نیمه آموزش دیده انجام گرفت. نمره دهی هر یک از ویژگی‌ها به صورت زیر انجام شد: بافت (5)، بافت سفت؛ 4، بافت تا حدودی سفت؛ 3، تا حدودی له شدگی و نرم شدگی؛ 2، له شدگی شدید؛ 1، بافت خیلی نرم بوده و تقریباً حالت خمیری دارد؛ رنگ (5)، سفید و شفاف؛ 4، سفید اندکی مات؛ 3، تقریباً خاکستری با ظاهر غیرشفاف؛ 2، خاکستری مایل به زرد؛ 1، خاکستری تیره و کدر؛ بو (5)، کاملاً مطبوع و ملایم؛ 4، بوی مشابه ماهی تازه؛ 3، بوی ماهی با اندکی بوی ترشیدگی؛ 2، بوی ترشیدگی کاملاً محسوس و نامطبوع؛ 1، بوی تعفن و ترشیدگی شدید؛ مقبولیت کلی (5)، کاملاً قابل قبول؛ 4، قابل قبول؛ 3، نامناسب برای مصرف؛ 2، نامقبول؛ 1، کاملاً نامقبول (Yongsheng, 2005).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل نرم‌افزاری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS¹⁶ انجام شد. به این ترتیب که پس از کنترل نورمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف - اسمیرنوف از تجزیه واریانس دوطرفه در قالب طرح آماری فاکتوریل کاملاً تصادفی استفاده گردید. در مواردی که تأثیر تیمارها معنی‌دار بود، برای مقایسه میانگین‌ها آزمون دانکن استفاده شد. اختلاف معنی‌دار تیمارها در سطح احتمال 5% در نظر گرفته شد. همچنین به منظور بررسی اثر تیمارها بر خصوصیات حسی نمونه‌ها از آزمون "کوروسکال والیس" و آزمون من ویتنی "یو" برای پیدا نمودن اختلاف معنی‌دار در بین نتایج حاصل از آزمون‌های حسی تیمارهای مورد آزمایش استفاده گردید (Wheater & Cook, 2002).

نتایج و بحث

آنالیز میکروبی نمونه‌ها

باکتری کل

تغییرات میزان بار باکتریایی کل TVC طی نگهداری در یخچال در شکل 1 نشان داده شده است. میزان اولیه این فاکتور در روز صفر نگهداری برای فیله شاهد و بسته‌بندی شده به ترتیب \log_{10} CFU/g 3/54 و 3/75 بود. در طول دوره نگهداری میزان بار باکتریایی کل برای هر دو تیمار افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0/05$) که پس از گذشت زمان در روز 12 نگهداری برای نمونه شاهد به \log_{10} CFU/g 7/67 و در نمونه بسته‌بندی شده با نانوکامپوزیت در روز 20 نگهداری به \log_{10} CFU/g 6/22 رسید، که کمتر از میزان مجاز توصیه شده برای ماهی خام (\log_{10} CFU/g 7) است (Hubbs, 1991; Aubourg, 1993). با توجه به مطالعه حاضر دوره نگهداری فیله شاهد بر اساس بار باکتریایی کل 10-12 روز می‌باشد.

هموژن شده و متعاقب آن رقت‌های مورد نیاز تهیه گردید. شمارش تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرمادوست در محیط کشت پلیت کانت آگار در 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 2 روز و در دمای 10 درجه سانتی‌گراد به مدت 7 روز با شمارش کلنی‌های موجود بر روی پلیت انجام گرفت. شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک و اینتروباکترها در محیط بی‌هوازی و به ترتیب در محیط کشت‌های ام آر اس - آگار¹ و وی آر بی جی - آگار² در دمای 30 درجه به مدت 2 تا 3 روز به روش پور پلیت انجام پذیرفت. تمامی گزارش‌ها به صورت \log CFU/g گزارش گردید (Arashisara et al., 2004; Sallam, 2007; Hernandez et al., 2009).

آزمون‌های شیمیایی نمونه‌ها

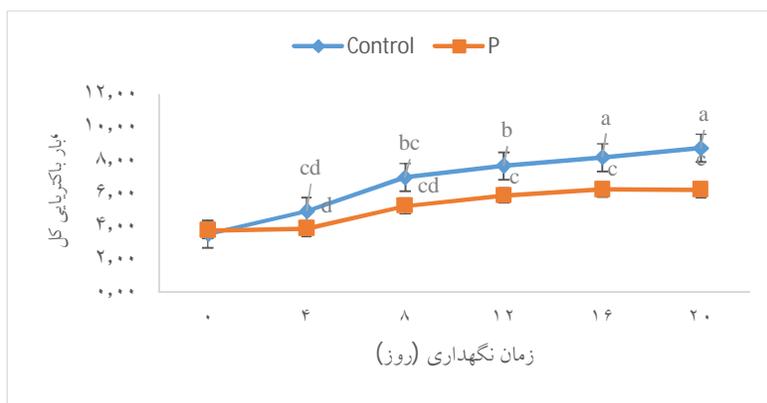
تعیین میزان TVB-N به روش (Pearson, 1997) انجام شد. 10 گرم نمونه چرخ شده ماهی در بالن شامل 2 گرم اکسید منیزیم و 300 میلی‌لیتر آب مقطر و سنگ جوش قرار داده شد. بخارهای تقطیر شده وارد محلول 2 درصد اسید بوریک شامل چند قطره معرف متیل رد و بروموکروزول سبز شده و در پایان توسط اسید سولفوریک 0/1 نرمال (A) تیتیر شد. مقدار مواد از ته فرار به صورت میلی‌گرم نیتروژن در 100 گرم نمونه ماهی بیان شد. اندازه‌گیری TBA به وسیله روش رنگ‌سنجی صورت گرفت. مقدار TBA بر حسب میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت ماهی محاسبه گردید (Egan et al., 1997). جهت اندازه‌گیری میزان پراکسید حدود 100 گرم نمونه گوشت ماهی با مقداری کلروفرم به مدت چند ساعت در تاریکی قرار گرفت. 25 میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده را در یک بشر خشک و وزن شده ریخته و کلروفرم زیر هود تبخیر شد. پس از خشک شدن نمونه در آون 105 درجه، 25 سی‌سی دیگر از این عصاره برداشته شده و با 37 سی‌سی اسید استیک مخلوط و سپس 0/5 سی‌سی از محلول یدید پتاسیم اشباع به آن اضافه گردید. پس از 1 دقیقه 30 سی‌سی آب مقطر و چند قطره معرف چسب نشاسته به آن اضافه شد و با تیوسولفات سدیم 0/01 نرمال تیتراسیون انجام گردید. مقدار پراکسید به صورت میلی‌اکی‌والان گرم در کیلوگرم چربی بیان شد (Pearson, 1997).

سنجش میزان pH

بدین منظور 5 گرم از نمونه به مدت 1 دقیقه با 45 میلی‌لیتر آب مقطر همگن شده و میزان pH آن با دستگاه pH متر (Metrohm) اندازه‌گیری شد (Suvanich, 2000).

1 MRS-agar

2 VRBD-agar

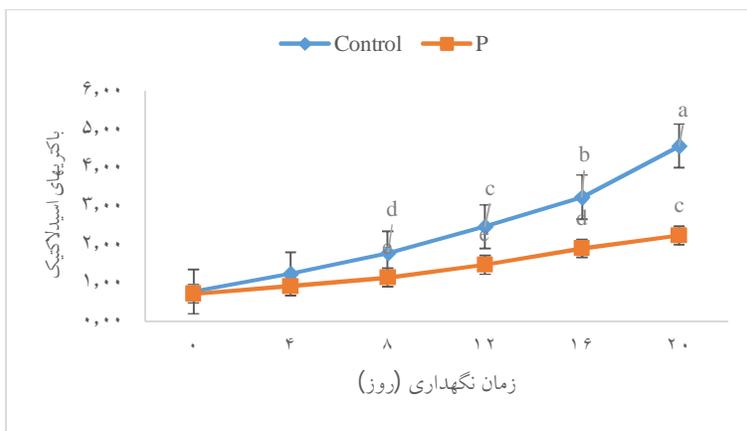


شکل 1- میزان تغییرات بار باکتریایی کل در تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال بر حسب لگاریتم (log cfu/g) تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم بافت.

میزان افزایش بار باکتریایی اسیدلاکتیک تفاوت معنی‌داری در هر دو تیمار نشان داد. باکتری‌های گرم مثبت در برابر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم حساسیت بیشتری نسبت به گرم منفی دارند. در پایان دوره نگهداری (روز 20) بار باکتریایی اسیدلاکتیک در تیمار بسته‌بندی نانوکامپوزیت به میزان $2/33 \log \text{cfu/g}$ در مقایسه با شاهد کمتر بود.

باکتری اسیدلاکتیک

میزان باکتری‌های اسیدلاکتیک در ابتدای دوره نگهداری برای فیله‌های بدون بسته‌بندی نانو 0/77 و برای فیله‌های بسته‌بندی شده 0/71 بود، که این میزان برای هر دو تیمار طی دوره نگهداری افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0/05$). در پایان دوره نگهداری (روز 20) نیز



شکل 2- میزان تغییرات بار باکتریایی اسید لاکتیک در تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال بر حسب لگاریتم (log cfu/g) تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم بافت.

باکتری سرمادوست

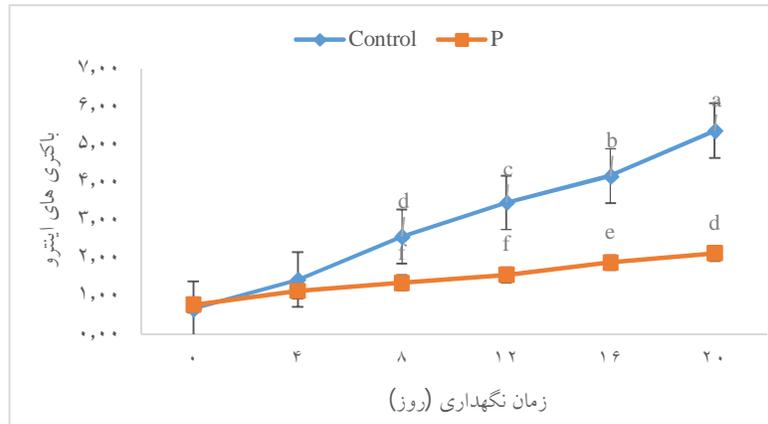
تغییر در تعداد باکتری‌های سرمادوست فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی شرایط نگهداری در یخچال در شکل 4 نشان داده شده است. تعداد اولیه باکتری‌های سرمادوست برای فیله‌ها $3/36 \log \text{cfu/g}$ بود که در تیمار شاهد، همانند سایر باکتری‌ها طی دوره نگهداری روند افزایشی نشان دادند. به طوری که در پایان دوره نگهداری برای نمونه شاهد به 8/55 رسید. روند تغییرات باکتری‌های سرمادوست در فیله‌های بسته‌بندی شده با نانوکامپوزیت تا روز 4

اینتروباکترها

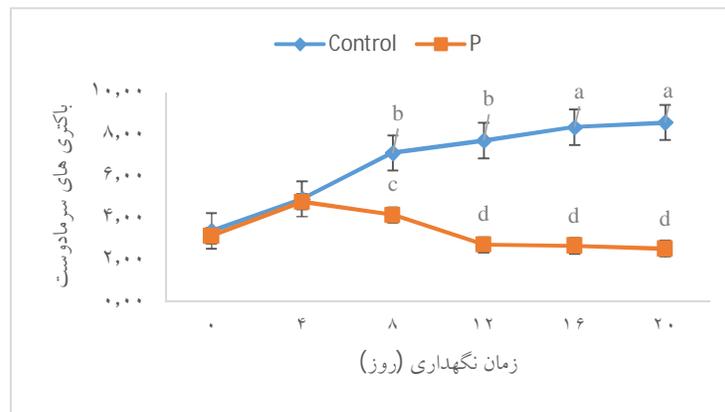
میزان اینتروباکترها نیز با گذشت زمان نگهداری در هر دو تیمار افزایش یافت (شکل 3). تغییرات باکتری‌های اینترو طی زمان اختلاف معنی‌داری، در هر دو تیمار نشان داد. در پایان دوره نگهداری میزان باکتری‌های اینترو در نمونه با بسته‌بندی نانوکامپوزیتی در مقایسه با شاهد کمتر بود ($p < 0/05$). به طوری کلی رشد باکتری‌های اینترو در مقایسه با سایر باکتری‌های مورد بررسی در این مطالعه کمتر بود.

نمونه بسته‌بندی شده با نانوکامپوزیت به $2/51 \log \text{cfu/g}$ رسید که در مقایسه با شاهد بسیار کمتر می‌باشد.

نگهداری به‌صورت افزایشی و پس از آن تا روز 15 نگهداری به‌صورت کاهش یافته است. میزان بار باکتریایی در روز 20 نگهداری برای



شکل 3- میزان تغییرات اینتروباکترها در تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال بر حسب لگاریتم (log cfu/g) تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم بافت.



شکل 4- میزان تغییرات بار باکتری‌های سرمادوست تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال بر حسب لگاریتم (log cfu/g) تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم بافت.

Fan *et al*, 2008). اولین خاصیت ضد میکروبی دی‌اکسید تیتانیوم با اثرکشدگی بر *اشرشیاکلی* انجام شد (Matsunaga *et al*, 1985). همچنین، مطالعات متعددی اثر ضدباکتریایی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم را به اثبات رسانده‌اند (Kuhn *et al*, 2003; Cho *et al*, 2004; 2008; 2009; Othman *et al*, 2014; Jeffery *et al*, 2009; Rahmani *et al*, 2008). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تحت تأثیر نور غنی از انرژی شده و الکترون تولید می‌کنند، این الکترون‌ها به سطح انتقال یافته و در واکنش با ملکول‌های جذب شده منجر به تولید رادیکال‌های فعال می‌شود. رادیکال‌های فعال باندهای کربن - هیدروژن را اکسید کرده و منجر به تجزیه ملکول‌های آلی می‌گردند (Hoffmann *et al*, 1995; Yu *et al*, 2003; Palza, 2003). (2015) فعالیت فوتوکاتالیتی دی‌اکسید تیتانیوم منجر به تولید

رشد تغییرات میکروبی در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به‌صورت افزایشی بود، به‌جز در مورد باکتری‌های سرمادوست که در تیمار بسته‌بندی نانوکامپوزیت، تا روز 4 روند افزایشی و پس از آن تا پایان دوره به‌صورت کاهش یافته است. بار باکتریایی ماهیان مختلف بسته به شرایط و دمای آب متغیر است. بار باکتریایی ماهیان آب شیرین حدود $2-6 \log \text{CFU/g}$ گزارش شده است (Gelman *et al*, 2001). در این تحقیق کیفیت اولیه به دلیل بار باکتریایی پایین ($3/6 \log \text{CFU/g}$) مناسب بود. باکتری‌های سرمادوست گرم منفی عامل اصلی فساد ماهی نگهداری شده به‌صورت سرد می‌باشند (Sallam, 2007). افزایش بار باکتریایی کل در گوشت ماهی طی زمان نگهداری ثابت شده است (Lyon and Reddmann, 2000; 2000).

تحقیقات متعدد خصوصیات ضدباکتریایی فیلم‌های نانوکامپوزیتی حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به تنهایی بدون استفاده در فیلم‌های بسته‌بندی را اثبات کرده‌اند (Rincon and Pulgarin, 2004; Cheng *et al*, 2006; Liu *et al*, 2011). در تحقیق انجام شده توسط Erkan و همکاران (2006) اثر ضدباکتریایی فیلم‌های نازک حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و دی‌اکسید قلع بررسی شد. نتایج نشان داد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به تنهایی و نیز در کنار سایر نانوذرات اثر ضدباکتریایی خود را ایفا می‌کنند. در تحقیقی فیلم‌های نانوکامپوزیتی حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم منجر به کاهش $3 \log \text{CFU/g}$ باکتری اشرشیا کلی شدند (Chawengkijwanich and Hayata, 2008). رادیکال‌های هیدروکسیل و گونه‌های فعال اکسیژن موجود در فیلم‌های نانوکامپوزیتی، که در نتیجه فعالیت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ایجاد شده‌اند، نقش مهمی در غیرفعال‌سازی باکتری‌ها ایفا می‌کنند. (Saito *et al*, 1992). شاید یکی از دلایل اثر ضدباکتریایی نانوکامپوزیت‌ها را بتوان به کاهش pH نمونه‌های بسته‌بندی شده مرتبط دانست. کاهش pH به افزایش نسبت ملکول‌های بدون بار منجر شده و ممکن است امکان تماس با دیواره سلولی باکتری را برای ترکیبات رادیکالی بیشتر کند. مقاومت باکتری‌ها در برابر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به نوع آن‌ها نیز وابسته می‌باشد، که به دلیل ضخامت متفاوت دیواره سلولی و طبیعت ترکیبات غیراشباع فسفولیپیدی میکروب‌ها ممکن است تغییر کند (Chawengkijwanich and Hayata, 2008; Kubaka *et al*, 2009).

مقادیر پراکسید

میزان پراکسید در مطالعه ما طی دوره نگهداری روند افزایشی از خود نشان داد ($p < 0/05$). مقدار اولیه این شاخص در هر دو تیمار $1/33 \text{ meq/kg}$ بود، که در پایان دوره نگهداری نمونه شاهد در مقایسه با نمونه بسته‌بندی شده با نانوکامپوزیت مقدار پراکسید بیشتری را شامل می‌شد. در این تحقیق شاخص پراکسید نمونه شاهد در روزهای پایانی نگهداری به حد غیرقابل مجاز رسید و نمونه بسته‌بندی همچنان در حد قابل مجاز باقی ماند.

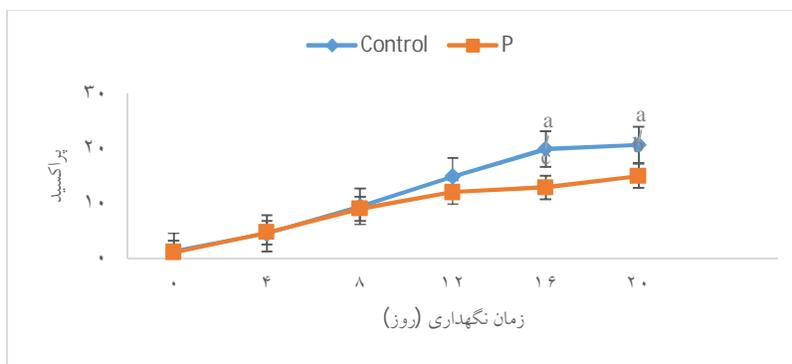
PV شاخصی برای اندازه‌گیری اکسیداسیون اولیه ماهی است که ترکیبات حاصل از اکسیداسیون اولیه (هیدروپراکسیدها) ناپایدارند و نقشی در تغییر طعم و بوی ماهی ندارند، بنابراین از سوی مصرف‌کننده قابل تشخیص نمی‌باشند. اما همین ترکیبات می‌توانند به ترکیبات ثانویه مثل آلدئید و کتون شده و سبب تشخیص تند شدن اکسیداسیونی در چربی شوند (Ozyurt *et al*, 2004). نتایج مربوط به شاخص پراکسید در نمودار 5 نشان داده شده است. همانطور که

رادیکال‌های هیدروکسیل و گونه‌های فعال اکسیژن در سطح می‌شود که به اکسید کردن فسفولیپید غشای سلول باکتری می‌پردازد. افزودن نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به فیلم‌های پلی‌اتیلن منجر به ایجاد خواص ضدباکتریایی در فیلم تولیدی می‌شود، به طوری که با استفاده از نانوکامپوزیت‌های حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از رشد باکتری‌های سودوموناس جلوگیری به عمل آمد (Bodaghi *et al*, 2013). در تحقیق حاضر نیز نانوکامپوزیت‌های حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم منجر به کاهش باکتری‌های کل و سرمادوست فیله ماهی در مقایسه با تیمار شاهد شدند و میزان باکتری‌های سرمادوست در مقایسه با شاهد در روز 20 نگهداری بسیار پایین‌تر بود که با نتایج سایر محققین در زمینه اثبات اثر ضدباکتریایی دی‌اکسید تیتانیوم و نانوکامپوزیت‌های حاوی نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم مطابقت دارد (Kim *et al*, 2003; Guimaraes and Barretto, 2003; Metak, 2015). باکتری‌های اسیدلاکتیک گروه دیگری از باکتری‌های عامل فساد ماهی می‌باشند. باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با گرم منفی در برابر عوامل ضدباکتریایی مقاومت کمتری دارند که دلیل این امر عدم وجود دیواره پلی‌ساکاریدی در باکتری‌های گرم مثبت عنوان شده است که در مورد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نیز اثر بیشتر بر باکتری گرم مثبت نسبت به گرم منفی به اثبات رسیده است (Chai *et al*, 2000; Xing Yu, 2000; Chawengkijwanich and Hayata, 2008; *et al*, 2012). در تیمار نانوکامپوزیت به دلیل حضور نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم این باکتری‌ها رشد بسیار کمتری در مقایسه با تیمار شاهد از خود نشان دادند در حالیکه در pH پایین توانایی رشد بیشتری داشتند، اما نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مانع از این امر شدند. نتایج ما در مورد اثر ضدباکتریایی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر باکتری‌های اسیدلاکتیک با Liu and Yang (2003) که باکتری گونه لاکتوباسیلوس هلوتیکوس¹ را مورد بررسی قرار دادند سازگار می‌باشد. اینتروباکترها نیز همانند باکتری‌های اسیدلاکتیک از جمله باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری هستند که در فساد ماهی مؤثرند. اینتروباکترها در مراحل پایانی نگهداری در یخچال شناسایی می‌شوند. با گذشت زمان نگهداری تعداد این باکتری‌ها نیز در هر دو تیمار افزایش یافت. در روز پایانی نگهداری تعداد باکتری‌های اینترو در نمونه بسته‌بندی شده با نانوکامپوزیت در مقایسه با شاهد کمتر بود ($p < 0/05$). سرعت رشد اینتروباکترها از دیگر باکتری‌های گرم منفی کمتر می‌باشد (Chytiri *et Papadopoulou et al*, 2003; Sallam, 2007; Xing *et al*, 2004). در تحقیق Xing و همکاران (2012) اثر ضدباکتریایی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر اینتروباکترها مورد بررسی قرار داده شد که نتایج ما با این مطالعه در توافق می‌باشد.

1 *Lactobacillus helveticus*

تشکیل هیدروپراکسید نسبت داده می‌شود. نتایج ما با نتایج بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مطالعه بادام همخوانی دارد (نصیری و همکاران، 2012).

مشاهده می‌گردد روند تغییرات PV در هر دو تیمار به صورت افزایشی بوده است و میزان PV در نمونه بسته‌بندی شده کمتر از شاهد بود. اکسیداسیون چربی‌ها به ترکیب رادیکال‌های آزاد و اکسیژن و

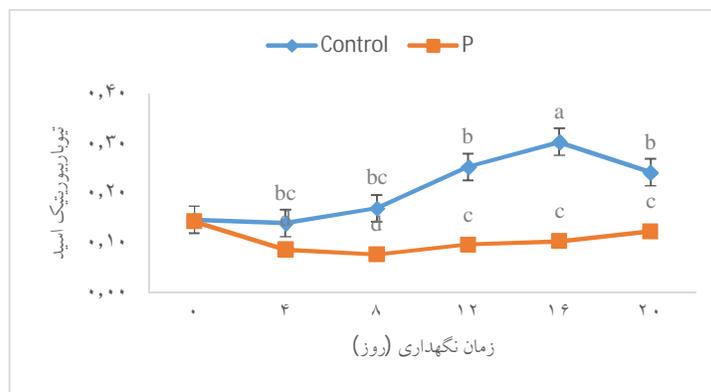


شکل 5- تغییرات PV تیمارهای مختلف طی شرایط نگهداری در دمای یخچال

نوساناتی مشاهده شد. در تیمار بسته‌بندی تا روز 12 نگهداری میزان TBA از مقدار اولیه (روز صفر) به صورت کاهشی و پس از روز 12 روند افزایشی تا پایان دوره نگهداری (روز 20) از خود نشان داد. مقدار نهایی TBA برای نمونه شاهد به 0/24 mg MDA/kg و در نمونه بسته‌بندی به 0/12 mg MDA/kg رسید.

مقادیر تیوباریوریتیک اسید

شکل 6 میزان تغییرات TBA را طی نگهداری در یخچال در دو تیمار شاهد و بسته‌بندی نشان می‌دهد. میزان اولیه TBA در هر دو تیمار 0/14 mg MDA/kg بود. مقدار TBA طی دوره نگهداری در تیمار شاهد روند افزایشی نشان داد ($p < 0/05$) و در تیمار بسته‌بندی



شکل 6- تغییرات TBA (mgMDA/kg) تیمارهای مختلف طی شرایط نگهداری در دمای یخچال

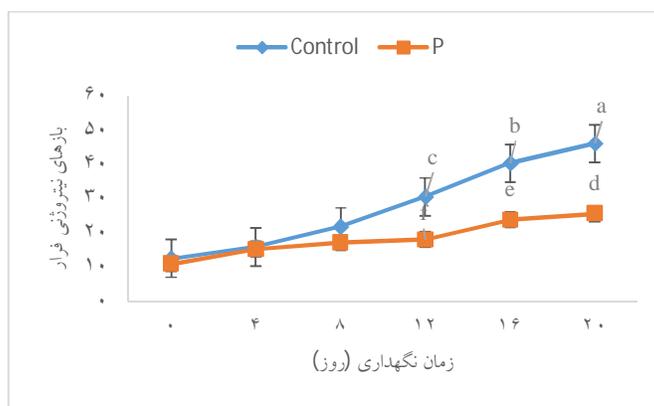
نگهداری به صورت کاهشی و پس از آن تا روز 20 نگهداری افزایشی بوده است. ممکن است به دلیل واکنش مالون آلدهید با آمین‌ها، فسفولیپیدها، پروتئین‌ها و سایر آلدهیدهایی که محصولات نهایی اکسیداسیون چربی هستند مقدار TBA کمتر از مقدار واقعی نشان داده شود (Aubourg, 1993). اثر تیمار بسته‌بندی بر میزان TBA معنی‌دار نبود اما اثر زمان بر میزان TBA معنی‌دار شد. اکسیداسیون چربی‌ها مربوط به اکسید شدن اسیدهای چرب چندغیراشباعی در عضلات ماهی می‌باشد.

شاخص TBA مربوط به اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید است که محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب چند غیراشباع است. پس از شکستن هیدروپراکسیدها محصولات نظیر آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، استرها، هیدروکربن‌ها، فوران‌ها و لاکتون‌ها ایجاد می‌شود (Bremner, 2002). نتایج این پژوهش نشان داد که طی زمان نگهداری میزان TBA در تیمار شاهد تا روز 16 نگهداری به صورت افزایشی و از روز 16 تا 20 نگهداری روند کاهشی را دنبال کرد. مقدار TBA در نمونه بسته‌بندی شده از روز 0 تا روز 12

TVN برای تیمار شاهد 13/46 و برای تیمار بسته‌بندی 61/25 به دست آمد. بالاترین سطح قابل قبول بازهای ازته فرار در گوشت ماهی را 25 میلی‌گرم نیتروژن به ازای 100 گرم پیشنهاد نموده‌اند مقدار TVN نمونه شاهد در روز 8 نگهداری و نمونه بسته‌بندی شده در روز 20 نگهداری به حد غیر قابل قبول رسید.

مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار

مقادیر TVN تیمار شاهد و بسته‌بندی طی نگهداری در یخچال در شکل 7 نشان داده شده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با گذشت زمان در هر دو تیمار میزان TVN افزایش یافت. تیمار شاهد میزان TVN بیشتری در مقایسه با بسته‌بندی داشت ($p < 0/05$). در انتهای دوره نگهداری (روز 20) بیشترین میزان



شکل 7- تغییرات TVB-N تیمارهای مختلف طی شرایط نگهداری در دمای یخچال

نگهداری به 7/04 در روز 20 نگهداری رسید. در حالیکه مقدار در تیمار بسته‌بندی طی زمان نگهداری کاهش یافت و از 6/54 به 6/31 رسید. بین دو تیمار اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p < 0/05$). کاهش pH طی دوره نگهداری در تیمار نانوکامپوزیت ممکن است به دلیل تولید دی‌اکسید کربن و تجزیه مواد آلی توسط نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اتفاق افتاده باشد. طبق بررسی‌های انجام شده تاکنون مطالعه مشابهی با تعیین اثر بسته‌بندی نانوکامپوزیتی حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در گوشت ماهی صورت نگرفته است. افزایش pH در نمونه شاهد را می‌توان به افزایش تولید بازهای فرار مثل آمونیاک و تری‌متیل‌آمین و فعالیت‌های آنزیمی باکتری‌ها و آنزیم‌های درونی نسبت داد (Fan et al, Kostaki et al, 2009). همانطور که بیان شد در نمونه بسته‌بندی شده با نانوکامپوزیت میزان بار باکتریایی کمتر بوده و در نتیجه فعالیت آنزیمی باکتری‌ها کمتر می‌شود که این پدیده نیز می‌تواند در کاهش pH مؤثر بوده باشد. کمتر بودن میزان pH در بسته‌بندی ضدباکتریایی در مقایسه با نمونه شاهد با مطالعه بررسی اثر پوشش ضد میکروبی کاراجینان بر قزل‌آلای رنگین کمان همخوانی داشت (Volpe et al, 2015).

ارزیابی حسی نمونه‌ها

ارزیابی حسی تیمارها با سه مشخصه رنگ، بو، بافت و تعیین

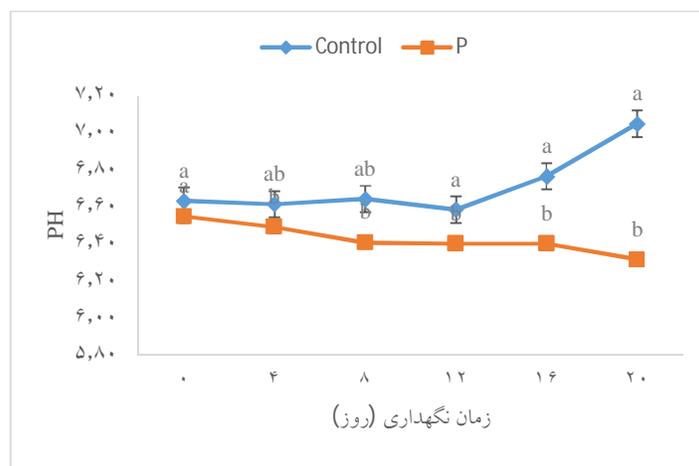
میزان TVN به میزان بار باکتریایی و در نتیجه فعالیت باکتریایی و آنزیمی وابسته است. تخریب بافت ماهی یک فعالیت پروتئولیتیک است که اکثراً توسط باکتری‌ها و به میزان کمی هم توسط آنزیم‌های اتولیتیک انجام می‌شود (Ocano-Higuera et al, 2009). حد مجاز قابل قبول بازهای نیتروژنی فرار در گوشت ماهی همانطور که اشاره شد 25 میلی‌گرم نیتروژن به ازای 100 گرم می‌باشد (Gimenez et al, 2002). همانطور که در نمودارهای مربوط به بار باکتریایی و TVN مشاهده شد افزایش بار باکتریایی و افزایش میزان TVN در هر دو تیمار مشاهده شد. در تیمار نانوکامپوزیت میزان بار باکتریایی در مقایسه با شاهد کمتر بود و میزان TVN نیز به مراتب کمتر بود. میزان TVN تیمار نانوکامپوزیت تا روز 16 نگهداری در حد مجاز باقی ماند. نتایج ما با نتایج اجاق و همکاران (2013) در بررسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پوشش داده شده با کیتوزان و اسانس دارچین همخوانی داشت.

تغییرات pH

تغییرات pH تیمارها در شکل 8 نشان داده شده است. میزان اولیه این فاکتور در روز اول نگهداری برای هر دو تیمار یکسان است. میزان pH ماهی زنده نزدیک به 7 می‌باشد. با گذشت زمان در تیمار شاهد میزان pH افزایش یافته و از مقدار 6/63 در روز صفر

بو و بافت کمتر از حد بحرانی بود، در حالیکه امتیاز رنگ در روز 16 نگهداری به 3/33 رسید و تنها تا روز 12 نگهداری قابل قبول بود. نتایج مربوط به امتیاز رنگ، بو، بافت و پذیرش کلی به‌ترتیب در شکل‌های 9، 10، 11 و 12 نشان داده شده است.

میزان پذیرش کلی نمونه‌ها انجام گرفت. بر اساس نتایج به‌دست آمده در این تحقیق امتیاز رنگ، بو و بافت در تیمار شاهد از روز 8 نگهداری به کمتر از 4 یعنی حد غیرقابل قبول مصارف انسانی رسید. در نمونه بسته‌بندی شده با نانوکامپوزیت، تا روز 16 نگهداری امتیاز



شکل 8- تغییرات pH تیمارهای مختلف طی شرایط نگهداری در دمای یخچال

جدول 1- روند تغییر امتیاز حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی شرایط نگهداری در یخچال

روز نگهداری						تیمار	شاخص حسی
20	16	12	8	4	0		
1/00±0/00 ^c	1/00±0/00 ^c	1/65±0/48 ^c	3/34±0/48 ^c	4/34±0/48 ^c	5/00±0/0 ^a	شاهد	رنگ
2/33±0/55 ^b	3/33±0/55 ^b	4/40±0/55 ^a	4/66±0/55 ^a	4/91±0/55 ^a	5/00±0/0 ^a	بسته	
1/31±0/47 ^c	2/40±0/55 ^{bc}	2/80±0/84 ^c	3/20±0/45 ^c	4/75±0/48 ^{ab}	5/00±0/0 ^a	شاهد	بو
3/31±0/96 ^a	4/33±0/45 ^a	4/66±0/45 ^a	4/75±0/45 ^a	4/40±0/55 ^{ab}	5/00±0/0 ^a	بسته	
1/17±0/38 ^c	1/60±0/55 ^c	2/60±0/55 ^c	3/20±0/71 ^c	5/00±0/00 ^a	5/00±0/0 ^a	شاهد	بافت
3/34±0/51 ^a	4/33±0/55 ^a	4/33±0/45 ^b	5/00±0/45 ^a	5/00±0/0 ^a	5/00±0/0 ^a	بسته	
1/16±0/48 ^c	2/40±0/55 ^c	3/00±0/00 ^b	3/40±0/45 ^b	4/80±0/45 ^{ab}	5/00±0/0 ^a	شاهد	
3/31±0/96 ^a	4/00±0/55 ^a	4/33±0/55 ^b	4/60±0/00 ^{ab}	4/40±0/45 ^{ab}	5/00±0/0 ^a	بسته	پذیرش کلی

رنگین کمان گردد. نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در بسته‌بندی قادر به کاهش بار باکتریایی سطحی فیله ماهی شده و بسته‌بندی نانوکامپوزیتی توانست مدت زمان ماندگاری را تا روز 16 نگهداری، با توجه به ارزیابی حسی، افزایش دهد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج ارائه شده در این تحقیق نشان داد استفاده از بسته‌بندی نانوکامپوزیتی حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند منجر به حفظ کیفیت و افزایش مدت زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای

منابع

- Aubourg, S. 1993. Review: interaction of malondialdehyde with biological molecules new trends about reactivity and significance. *International Journal Food Science Technology*. 28: 323–335.
- Arashisara, S., Hisara, O., Kayab, M. & Yanik, T. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets, *International Journal of Food Microbiology* 97, 209–214.
- Azeredo, H. 2009. Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International*, 42: 1240–1253.

- Bodaghi, H., Mostofi, Y., Oromiehie, A., Zamani, Z., Ghanbarzadeh, B., Costa, C., Conte, A. & Nobile, M. A. 2013. Evaluation of the photocatalytic antimicrobial effects of a TiO₂ nanocomposite food packaging film by in vitro and in vivo tests. *LWT - Food Science and Technology*, 50, 702-706.
- Bonetta, S. Bonetta, S. Motta, F. Strini, A. & Carraro, E. 2013. "Photocatalytic bacterial inactivation by TiO₂-coated surfaces," *AMB Express*, vol. 3, no. 1, pp. 1-8.
- Bott, J. Stomer, A. & Franz, R. 2014. A comprehensive study into the migration potential of nanoparticles from plastics nanocomposites for food contact. *Food packaging and shelflife*, 2: 73 – 80.
- Bremner, H. A. 2002. Safety and quality issues in fish processing. CRC Press, Denmark, 519p.
- Cerrada, M. L. Serrano, C. Sanchez-Chaves, M. Fernandez-Garcia, M. Fernandez-Martin, F. Andres, A. Rioboo, R. J. J. Kubacka, A. Ferrer, M. & Fernandez-Garcia, M. 2008. Self-sterilized EVOH-TiO₂ nanocomposites: interface effects on biocidal properties. *Adv Funct Mater*, 18:1949-60.
- Chai, Y. S. Lee, J. C. & Kim, B. W. 2000. Photocatalytic disinfection of *E. coli* in a suspended TiO₂/UV reactor. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 17(6), 633-637.
- Chawengkijwanich, C. & Hayata, Y. 2008. Development of TiO₂ powder-coated food packaging film and its ability to inactivate *Escherichia coli* in vitro and in actual tests. *International Journal of Food Microbiology*, 123, 288-292.
- Cheng, Q. Li, C. Pavlinek, V. Saha, P. & Wang, H. 2006. Surface modified antibacterial TiO₂/Ag⁺ nanoparticles: preparation and properties. *Applied Surface Science*, 252, 4154-4160.
- Cho, M. Chung, H. Choi, W. & Yoon, J. 2004. Linear correlation between inactivation of *E. coli* and OH radical concentration in TiO₂ photocatalytic disinfection. *Water Research*, 38(4), 1069-1077.
- Church, N. 1998. MAP fish and crustaceans—sensory enhancement. *Food Science Technology Today* 12(2):73-83.
- Chytiri, S., Chouliari I., Savvaidis I. N., Kontominas, M. G. 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*, 21:157-65.
- Del Nobile, M. A., Conte, A., Buonocore, G. G., Incoronato, A. L., Massaro, A. & Panza, O. 2009. Active packaging by extrusion processing of recyclable and biodegradable polymers. *Journal of Food Engineering*, 93, 1-6.
- Erkan, A., Bakir, U. & Karakas, G. 2006. Photocatalytic microbial inactivation over Pd doped SnO₂ and TiO₂ thin films. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 184(3), 313-321.
- Fan, W., Chi, Y. & Zhang, S. 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice, *Food Chemistry* 108, 148-153.
- Gelman, A., Glatman, L., Drabkin, V. & Harpaz, S. 2001. Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond-raised freshwater fish, silver perch (*Bidyanus bidyanus*), *Journal of Food Protection*, 64, 1584-1591.
- Gimenez, B., Roncales, P. & Beltran, J.A. 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal Science Food Agriculture*, 84: 1154-9.
- Gomes, H. D. A., Silva, E. N. D., Nascimento, M. R. L. D. & Fukuma, H. T. 2003. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chemistry*, 80(3), 433-437.
- Goulas, A. E. & Kontominas, M. G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 100, 287-296.
- Guimaraes, J. R. & Barretto, A. S. 2003. Photocatalytic inactivation of *Clostridium perfringens* and Coliphages in water. *Brazilian Journal of Chemical of Engineering*, 20(4), 403-411.
- Hernandez, M. D. Lopez, M.B. Alvarez, A. Ferrandini, E. Garcia Garcia, B. & Garrido, M. D. 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage, *Food Chemistry* 114, 237-245.
- Hoffmann, M. R. Martin, S. T. Choi, W. & Bahnemann, D. W. 1995. Environmental applications of semiconductor photocatalysis. *Chemical Reviews*, 95(1), 69-96.
- Hubbs, J. 1991. Fish: microbiological spoilage and safety. *Food Science Technology*, 5:166-173.
- Huss, H. H. 1995. Quality and quality changes in freshwater fish. Rome, Italy: FAO.
- Kim, B. Kim, D. Cho, D. & Cho, S. 2003. Bactericidal effect of TiO₂ photocatalyst on selected food-borne pathogenic bacteria. *Chemosphere*, 52(1), 277-281.
- Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I. N. & Kontominas, M. G. 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology*, 26: 475-82.
- Kubacka, A., Serrano, C., Ferrer, M., Lunsdorf, H., Bielecki, P., Cerrada, M. L., Fernandez-Garcia, M., Fernandez-Garcia, M. 2007. High-performance dualaction polymer-TiO₂ nanocomposite films via melting processing. *Nano Lett*, 7:2529-34.

- Kuhn, K. P., Chaberny, I. F., Massholder, K., Stickler, M., Benz, V. W., Sonntag, H. G. & Erdinger, L. 2003. Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. *Chemosphere*, 53(1), 71-77.
- Lin, Q. B., Li, H., Zhong, H. N., Zhao, Q., Xiao, D. H. & Wang, Z. W. 2014. Migration of Ti from nano-TiO₂-polyethylene composite packaging into food simulants. *Food Additives & Contaminants* Vol. 31, No. 7, 1284-1290.
- Liu, H. L. & Yang, T. C. K. 2003. Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli* and *Lactobacillus helveticus* by ZnO and TiO₂ activated with ultraviolet light. *Process*
- Lorens, A., Lloret, E., Picouet, P. A., Trbojevich, R. & Fernandez, A. 2011. Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. *Trend Food Science Technology*. 24:1-11.
- Lyon, W. J., & Reddmann, C. S. 2000. Bacteria associated with processed crawfish and potential toxin production by *Clostridium botulinum* type E in vacuum packaged and aerobically packaged crawfish tails, *Journal of Food Protection*, 63(12), 1687-1696.
- Manangan, T., Shawaphun, S., Sangsansir, D., Changcharoen, J. & Wacharawichanant, S. 2010. Nano-Sized Titanium Dioxides as Photo-Catalysts in Degradation of Polyethylene and Polypropylene Packagings. *Science Journal Ubon Ratchathani University*, 1: 14-20.
- Marsh, K. & Bugusu, B. 2007. Food packaging—roles, materials, and environmental issue. *Journal of food science*, 72(3), 39-55.
- Matsunaga, T., Tomada, R., Nakajima, T. & Wake, H. 1985. Photochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *FEMS Microbiology Letters*, 29(1-2), 211-214.
- Metak, A. M. 2015. Effects of Nanocomposite Based Nano-Silver and Nano-Titanium Dioxide on Food Packaging Materials. *International Journal of Applied Science and Technology*. *International Journal of Applied Science and Technology* Vol. 5, No. 2, 26-40.
- Nasiri, A., Shariaty-Niasar M. & Akbari, Z. 2012. Synthesis of LDPE/Nano TiO₂ Nanocomposite for Packaging Applications. *International Journal Nanoscience*. *Nanotechnol.*, Vol. 8, No. 3, pp. 165-170.
- Natseba, A., Lwalinda, I., Kakura, E., Muyanja, C. K. & Muyonga, J. H. 2005. Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Research International*. 38: 469-474.
- Ocano-Higuera, V. M., Marquez-Ríos, E., Canizales-Davila, M. & Castillo-Yáñez, F. J. Pacheco-Aguilar, R. Lugo-Sanchez, M. E. Garcia-Sanchez, G. Marquez-Ríos, E. Gomez-Jimenez, S. and Pacheco-Aguilar, R. 2009. Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice. *Food Chemistry*; 116: 933-8.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. & Hosseini, S. M. H. 2012. Effect of antimicrobial coating on shelf-life extension of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *JFST* No. 34, Vol. 9, 13-23.
- Othman S.H., Salam N. R. A., Zianal, Basha, R.K. & Talib, R.A. 2014. Antimicrobial Activity of TiO₂ Nanoparticle-Coated Film for Potential Food Packaging Applications. *International Journal of Photoenergy*, 1-6.
- Ozyurt, G. Polat, A. & Tokur B. 2004. Chemical and sensory changes in frozen (-18 °C) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. *Journal of Food Science Technology*, 42: 887-93.
- Palza, H. 2015. Antimicrobial Polymers with Metal Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 2099-2116.
- Panea, B., Ripoll, G., Gonzalez, J., Fernández-Cuello, A. & Albertí, P. 2014. Effect of nanocomposite packaging containing different proportions of ZnO and Ag on chicken breast meat quality. *Journal of Food Engineering* 123:104-112.
- Papadopoulos, V., Chouliara, I., Badeka, A., Savvaidis, I. N. & Kontominas, M. G. 2003. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology*, 20, 411-420.
- Pearson, D. 1997. Laboratory technic in food analysis. Butter Worth. London, UK. pp. 256-270. Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork, *Package Technology Science*. 19, 149-157.
- Rahmani, A. R., Samadi, M. T. & Enayati Moafagh, A. 2008. Investigation of photocatalytic degradation of phenol by UV/TiO₂ process in aquatic solutions. *Journal of Health Research*, 8(2), 55-60.
- Rincon, A. & Pulgarin, C. 2004. Field solar E. coli inactivation in the absence and presence of TiO₂: is UV solar dose an appropriate parameter for standardization of water solar disinfection? *Solar Energy*, 77, 635-648.
- Saito, T., Iwase, T. & Morioka, T. 1992. Mode of photocatalytic bactericidal action of powdered semiconductor TiO₂ on mutants streptococci. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 14(4), 369-379.
- Sallam, I. K. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon, *Food Control* 18, 566-575.
- Savvaidis, I. N., Skandamis, P.N., Riganakos, K.A., Panagiotakis, N. & Kontominas, M.G. 2002. Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged trout at 4 and 10°C using irradiation, *Journal. Food Protection*. 65,515-522.

- Suvanich, V., Jahncke, M. L. & Marshal, D. L. 2000. Changes in selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. *Food Chemistry and Toxicology* 65:24-29.
- Volpe, M.G., Siano, F., Paolucci, M., Sacco, A., Sorrentino, A., Malinconico, M. & Varricchio, E. (2015). Active edible coating effectiveness in shelf-life enhancement of trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet. *LWT - Food Science and Technology* 60, 615-622 Contents.
- Yingyuad, S., Ruams, S., Reekprkhon, D., Douglas, S., Pongamphai S. & Siripatrawan, U. 2006. Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork, *Package Technology Science*, 19, 149–157.
- Yongsheng, C., John, C. & Crittenden, A. 2005. Preparation of a novel TiO₂ based p-n-junction nanotube photocatalyst. *Environment Science technology*, 39: 1201-1208.
- Yu, J. G., Yu, H. G., Cheng, B., Zhao, X. J., Yu, J. C. & Ho, W. K. 2003. The effect of calcination temperature on the surface microstructure and photocatalytic activity of TiO₂ thin films prepared by liquid phase deposition. *Journal of Physical Chemistry B*, 107(50), 13871-13879.
- Yu, B., Leung, K. M., Guo, Q., Lau, W. M. & Yang, J. 2011. Synthesis of Ag/TiO₂ composite nano thin film for antimicrobial application. *Nanotechnology*, 22, 115603 (9 pp).
- Wheater, C. P. & Cook, P. A. 2002. Using Statistics to Understand the Environment. Routledge Publication, 245pp.

Effect of TiO_2 nanocomposite on, sensory, microbial and chemical properties of refrigerated rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*)

Z. H. Noori¹, B. Shabanpour*², H. Azizi³, S. M. Ojagh⁴, A. Alishahi⁵

Received: 2016.10.25

Accepted: 2017.04.15

Introduction: The importance of maintenance and supply fresh fish instead of frozen due to the consumers interested in fresh fish is highly regarded. Titanium dioxide is a non-toxic nanoparticle that the American Food and Drug Administration approve its using at levels that are in contact with food. The antimicrobial and anti-fungal effects of this nanoparticle have been proven in a wide range of microorganisms (Saito *et al*, 1999). The use of titanium dioxide nanoparticles in polyethylene and polypropylene coatings has been investigated. The results showed that this nanoparticle, in addition to reducing the oxidation content of the package, could be effective in reducing silicone recovery of polyethylene and polypropylene in nature (Manangan *et al*, 2010). Rainbow trout is one of the most widely consumed breeding fish in Iran. Due to the high production and consumption of this fish, it is vital to take the necessary measures to maintain quality and increase its shelf-life. Therefore, this research was conducted to investigate the effect of titanium dioxide nanoparticle polyethylene packaging on quality and shelf-life of rainbow trout fillets during storage in a refrigerator.

Material and methods: Chemical (Peroxide value (PV) (Pearson,1997), Tiobarbitric acid (TBA) (Egan *et al.*, 1997), total volatile basic-nitrogen (TVB-N) (Pearson, 1997), pH), microbial (Total viable, Total viable counts, psychrophilic counts, lactic acid bacteria and Enterobacteriaceae) and Sensory analysis of samples was calculated and determined. The results of ANOVA using SPSS 16 software analysis and comparison of data using Duncan's multiple range test was 0.05 Sensory evaluation and analysis of non-parametric Mann-Whitney U test was used to test.

Result and Discussion: The process of microbial changes in the rainbow trout fillet was increased, except for the psychrophilic bacteria that were in the packaged nanocomposite treatment until the 4th day of the growing trend and then until the end of the period was reduced. Nanocomposites containing titanium dioxide containing nanoparticles prevent the growth of pseudomonas. (Bodaghi *et al*, 2013). The total amount of all chemical factors during the storage period showed an increasing trend in both treatments except for the factor observed in the packed sample. The results showed that in the control sample, the sensitivity rating on the day 8 was kept to a limit of less than 4, while in the sample packed with the nanocomposite until the 16th day, the points were less than the limit and the color score on day 12 Limiting receipts. Fat oxidation and microbial decomposition, and the production of esophagus combustion agents and fish tissue were changed. The antioxidant and antimicrobial effects of the packaged sample resulted in prolonging the shelf life and maintaining the quality of the fillets until the 16th day. Sensory, chemical and microbiological analysis results showed that the rainbow trout shelf life in nanocomposite packaging is suitable for 16-18 days.

Keywords: Nano- packaging, Low density polyethylen, TiO_2 nanoparticles, shelflife, Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

1, 2, 4 and 5. Ph. D. Student, Professor, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Fisheries, University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Gorgan, Iran.

3. Assistant Professor, Polymer engineering, Iran Polymer and Petrochemical Institute (IPPI), P.O. Box: 14965/115, Tehran, Iran

(*Corresponding Author Email: b_shabanpour@yahoo.com)

بررسی امکان تولید رنگ کارامل از دو منبع انگور و خرما و ریزپوشانی آن به روش خشک کن انجمادی

الناز قائم‌فر¹ - محمودرضا حجتی^{2*}

تاریخ دریافت: 1395/08/07

تاریخ پذیرش: 1396/03/20

چکیده

با توجه به مصرف زیاد رنگ‌های خوراکی در صنایع غذایی، در این پژوهش، اثر فاکتورهای چون نوع کاتالیست (آمونیم کلراید و گلابسین)، غلظت کاتالیست (2-0/5 مولار)، میزان pH محیط واکنش (4-5)، زمان انجام واکنش (120-60 دقیقه) بر شدت رنگ کارامل مایع تولید شده از دو منبع طبیعی خرما و انگور، بر اساس طراحی آزمایش فاکتوریل جزئی بررسی شده است. نتایج نشان داد نوع کاتالیست مصرفی تأثیری بر میزان شدت رنگ نداشت و بیشترین میزان شدت رنگ (0/174 برای رنگ تولید شده از انگور و 0/150 برای رنگ تولید شده از خرما) در زمان 120 دقیقه، pH برابر با 4 و غلظت کاتالیست 2 مولار به دست آمد. پایدارسازی رنگ‌های مایع تحت فرآیند ریزپوشانی با تولید سه نمونه به فرم جامد (بدون پوشش دهنده، همراه با صمغ عربی (شامل 20 درصد ماده جامد)، همراه با مالتودکسترین (شامل 20 درصد ماده جامد) انجام شد. نتایج به دست آمده از آنالیز گرماسنج حرارتی (TGA) و گرماسنج پویسی تفاضلی (DSC) نشان دهنده افزایش مقاومت حرارتی رنگ با فرآیند ریزپوشانی بود؛ به گونه‌ای که دمای آغاز تخریب برای نمونه‌های مایع، پودری بدون پوشش دهنده، پودری همراه با صمغ عربی و پودری همراه با مالتودکسترین برای رنگ تولید شده از انگور به ترتیب 114، 138، 162، 185 درجه سلسیوس و برای رنگ تولید شده از خرما به ترتیب 113، 131، 143، 180 درجه سلسیوس بود. نتایج میکروسکوپ الکترونی روشی (SEM) نشان داد اندازه پودرهای ریزپوشانی شده حدود 11 تا 55 میکرومتر بود.

واژه‌های کلیدی: انگور، خرما، خشک کن انجمادی، ریزپوشانی، کارامل.

مقدمه

مشخصات ظاهری یک غذا تعیین کننده اصلی مقبولیت آن است. رنگ خوراکی یک نوع ماده افزودنی است که عمدتاً به دلایلی از جمله جبران رنگ از بین رفته در اثر فرآیند، ایجاد رنگی خاص در فرآورده‌های فاقد رنگ با هدف افزایش جذابیت ماده غذایی، افزایش درک طعم محصول و همچنین تزئین محصولات غذایی استفاده می‌شوند (Kamuf et al., 2007).

رنگ کارامل از پرمصرف ترین رنگ‌های غذایی هستند که بیشتر از 80 درصد از رنگ‌های افزوده شده به محصولات غذایی را شامل می‌شوند (Kamuf et al., 2007). این رنگ‌ها به صورت مایعات ویسکوز و یا پودرهای جاذب رطوبت هستند و برای رنگ دادن به مواد غذایی و نوشیدنی‌هایی مثل فرآورده‌های نانوائی، مرباها،

شیرینی‌ها و شکلات‌ها، نوشابه و ماء‌الشعیرها، دسرها، سس‌ها و بستنی‌ها به کار می‌روند. رنگ کارامل ارزش قابل توجهی به‌عنوان افزودنی غذایی دارد. اهمیت رنگ کارامل علاوه بر رنگ‌دهی به خاطر خواص کاربردی با ارزش آن از جمله پایداری سیستم‌های کلوتیدی، جلوگیری از تشکیل تیرگی و غبار، کاهش تغییرات طعم و افزایش زمان مصرف برخی از نوشیدنی‌ها، داشتن خواص امولسیون کنندگی و همچنین بهبود پراکنندگی مواد نامحلول در آب است (Delgado et al., 2002). امروزه به تناسب نوسانات برداشت کاکائو و بهای آن در بازار، رنگ کارامل را به‌عنوان بسط دهنده کاکائو نیز به کار می‌برند و در مواردی این رنگ می‌تواند جایگزین پودر کاکائو و جانشین مناسبی برای رنگ قهوه‌ای تشکیل شده از سه رنگ مصنوعی سرخ، زرد و آبی باشد.

تحقیقاتی که تاکنون پیرامون رنگ‌های کارامل انجام شده است از دو جهت منبع اولیه و روش تولید مورد مطالعه قرار می‌گیرند. در تولید رنگ از کربوهیدرات‌ها، سرعت تشکیل رنگ و ترکیب محصول به پارامترهایی نظیر ماهیت مواد اولیه، غلظت آنها، دما، pH و ماهیت کاتالیست‌هایی که استفاده می‌شوند بستگی دارد (Scret, 2011). این

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی شیمی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

2- استادیار، گروه مهندسی شیمی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.
* نویسنده مسئول: (Email: hojati_m@iaushiraz.ac.ir)

بیکسین از درخت آنانو با صمغ عربی و مالتودکسترین و رنگدانه بتاکاروتن با پوشش‌دهنده‌های پروتئین سویا و نشاسته اصلاح‌شده نیز منجر به افزایش پایداری آنها گردید (Shu, 2006, Barbosa, 2005, Loksuwan, 2007). همچنین نتایج Burin و همکاران (2011) نشان داد ریزپوشانی آنتوسیانین استخراج‌شده از انگور با سه ماده مالتودکسترین، صمغ عربی و سیکلودکسترین موجب افزایش طول عمر و کاهش سرعت تجزیه رنگدانه‌ها می‌گردد.

یکی از اهداف این پژوهش تولید رنگ کارامل نوع III به فرم مایع از منابع طبیعی انگور و خرما به روش حرارت‌دهی کربوهیدرات است. مصرف، بسته‌بندی و حمل و نقل رنگ کارامل مایع به علت ویسکوز بودن، مشکلاتی را به وجود می‌آورد. همچنین رنگ مایع در برابر عوامل محیطی مقاومت کمتری نسبت به رنگ پودری دارد. از این رو دیگر هدف این تحقیق تولید ریزکپسول کارامل به روش خشک‌کن انجمادی است.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه برای استفاده در این تحقیق شیره انگور و شیره خرما است. شیره انگور از انگور ریش‌بابا و با حرارت‌دهی آب انگور و شیره خرما از خرما کیباب و حرارت‌دهی و جوشاندن مخلوط خرما و آب تهیه شده است. آمونیوم کلراید، اسیدسیتریک، سدیم‌هیدروکسید، توپین 80 و صمغ عربی از شرکت مرک آلمان، گلاسیسین از شرکت سیگما آلدریج و مالتودکسترین با درجه هیدرولیز 18 از شرکت دکستروز ایران تهیه شدند. نمونه رنگ کارامل جهت استفاده به‌عنوان نمونه شاهد از شرکت کریستین هانسن (دانمارک) تهیه شد. برخی از خواص مواد اولیه در جدول 1 گزارش شده است.

ویژگی	شیره انگور	شیره خرما
میزان مواد جامد محلول (بریکس)	70	75
pH	4/75	4/25
میزان قندهای احیا (گرم در هر 100 گرم)	61	68

روش تولید رنگ کارامل مایع

روش تولید با کمی تغییر مطابق با روش ذکر شده توسط Al-Abid و همکاران (2007) انجام شده است. مقدار 20 گرم از شیره (خرما یا انگور) درون یک بشر با استفاده از همزن مغناطیسی در حالت اختلاط قرار گرفت و تا دمای 65 درجه سلسیوس حرارت داده شد. سپس واکنش‌گرهای مورد استفاده با غلظت‌های معین (جدول 2) به‌منظور تولید رنگ کارامل نوع III و دارای بار مثبت به محتویات بشر اضافه شدند. برای تنظیم pH نمونه به مقادیر مطلوب (جدول 2)

رنگ طبیعی تاکنون از کربوهیدرات‌های متفاوتی مثل ذرت، گندم، چغندرقد، ملاس، گلوکز و فروکتوز ساخته شده است. گلوکز و فروکتوز قندهایی هستند که به راحتی کاراملیزه می‌شوند (Harry, 1965). Benhura و همکاران (1999) پس از استخراج پلی‌ساکارید از میوه *Azanza garckeana* با آب و حرارت‌دهی آن در حضور نمک‌های آمونیوم رنگ کارامل تولید نمودند و استفاده از نمک‌های آمونیوم کلراید و آمونیوم سولفات منجر به تولید رنگی با شدت رنگ بیشتر گردید. Al-Abid و همکاران (2007) رنگ کارامل را از شیره خرما در حضور آمونیاک و روش حرارت‌دهی و در دمای 100 درجه سلسیوس تولید کردند. نتایج نشان داد که تولید رنگ کارامل از خرما امکان‌پذیر است و می‌تواند کاربردهای گوناگونی در صنعت غذا داشته باشد. کرامت و ملک (1380) به تولید رنگ کارامل با استفاده از ستون رزین از ملاس چغندرقد پرداختند. آن‌ها گزارش نمودند که کارامل تولید شده با این روش کارامل نوع یک است. با توجه به اینکه جهت استفاده از این روش ماده اولیه باید حاوی رنگدانه باشد؛ بنابراین، با وجود اقتصادی بودن، روشی قابل استفاده برای همه کربوهیدرات‌ها نیست. روش حرارت‌دهی ناپیوسته روشی رایج و اقتصادی برای تولید رنگ کارامل است.

در صنعت غذا، طیف گسترده‌ای از مواد حساس در برابر عوامل محیطی مانند ترکیبات مولد عطر و طعم، رنگدانه‌ها، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب و مواد شیرین‌کننده را جهت افزایش پایداری می‌توان، ریزپوشانی کرد. انواع متفاوتی از ریزکپسول‌ها با استفاده از مواد مختلف جهت تشکیل دیواره (مونومرها و یا پلیمرها) تولید می‌شوند و برای تولید آنها از فرآیندهای فیزیکی و شیمیایی متفاوتی نظیر خشک‌کردن پاششی¹، سردکردن پاششی²، پوشش‌دهی بستر سیال³ و خشک‌کردن انجمادی⁴ استفاده می‌گردد (Rai, 2016). تحقیقات بسیاری در مورد ریزپوشانی ترکیبات رنگی انجام شده است.

تولید رنگ کارامل پودری با استفاده از خشک‌کن پاششی و در حضور کاتالیست گلاسیسین نشان داد این روش علاوه بر افزایش شدت رنگ، به دلیل کاهش زمان تولید منجر به کاهش هزینه‌ها می‌شود (Huang et al., 2015).

Khazaei و همکاران (2014) تأثیر دو پوشش‌دهنده صمغ عربی و مالتودکسترین بر پایداری آنتوسیانین استخراج‌شده از گلبرگ زعفران به روش ریزپوشانی را بررسی کردند. نتایج بررسی‌ها نشان داد که این دو پوشش‌دهنده به‌صورت قابل توجهی پایداری این رنگدانه را افزایش می‌دهند. ریزپوشانی رنگدانه لیکوپن با ترکیب ژلاتین و گلوکز، رنگدانه

- 1 Spray drying
- 2 Spraychilling
- 3 Fludized bed coating
- 4 Freeze drying

انجام شد و مقادیر به دست آمده از این آزمون‌ها و مقادیر استاندارد در جدول 5 ذکر شده است. به منظور تعیین شدت رنگ‌های تولیدی، محلول 0/1 درصد (وزنی/حجمی) از رنگ کارامل تهیه گردید و میزان جذب محلول در یک سل 1 سانتی متری و در طول موج 610 نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج مرئی فرابنفش دو پرتویی مدل T92 plus (انگلیسی) قرائت شد (Sengar et al., 2014). قدرت رنگ‌دهی بر اساس واحد EBC طبق فرمول ارائه شده توسط کرامت و ملک (۱۳۸۰) و شاخص رنگ¹ یا قرمزی طبق فرمول ارائه شده توسط Kamuf و همکاران (2003) به ترتیب از روابط (1) و (2) به دست می‌آیند.

$$E.B.C = \frac{20000 \times \text{تفاضل میزان جذب نمونه و شاهد در طول موج 610 نانومتر}}{10 \times 0.104 \times (\text{گرم وزن نمونه})} \quad (1)$$

$$\text{Hue index} = 10 \log \left(\frac{A_{510}}{A_{610}} \right) \quad (2)$$

A510: میزان جذب در طول موج 510 نانومتر
A610: میزان جذب در طول موج 610 نانومتر

عدد شاخص حساسیت رنگ² طبق رابطه ارائه شده توسط کرامت و ملک (1380) محاسبه شده است. این شاخص، حساسیت رنگ را در برابر pH بیان می‌کند. در pHهای 4 و 9 میزان جذب رنگ تولید شده در طول موج 420 نانومتر اندازه‌گیری می‌شود و طبق معادله ذیل عدد شاخص حساسیت تعیین می‌گردد.

$$IV = \frac{A_{420} (pH=9)}{A_{420} (pH=4)} \quad (3)$$

ویسکوزیته با استفاده از دستگاه ویسکومتر بروکفیلد توسط اسپیندل شماره 5، در 20 rpm و دمای 30 درجه سلسیوس تعیین گردید. میزان pH در تمامی مراحل به صورت pH محلول 15 درصد از نمونه اندازه‌گیری شد (Fetzer, 1938). نقاط کدورت³ و ژل⁴ بر اساس روش ارائه شده توسط Al-Abid و همکاران (2007) اندازه‌گیری شدند. بار یونی رنگ طبق روش ارائه شده در سازمان مشترک غذا و دارو و سلامت جهانی تعیین گردید (JECFA, 2011). برای تعیین میزان مواد جامد کل محلول یا بریکس، از دستگاه رفاکتومتر دستی استفاده شد (Agyei-Aye, 2002). نیتروژن و پروتئین طبق استاندارد 19052 مربوط به اندازه‌گیری میزان نیتروژن و محاسبه مقدار پروتئین خام و میزان قندهای احیا برای شیرهای خرما و انگور مطابق با استاندارد 4799 مربوط به اندازه‌گیری قندهای

از اسید سیتریک و سدیم هیدروکسید استفاده شد واکنش در دمای 110 درجه سلسیوس و فشار محیط و زمان‌های معین (جدول 2) انجام شده است.

جدول 2- پارامترها و سطوح تعیین شده برای استفاده در آزمایش

پارامترهای سامانه	برای هر دو ماده		
	سطح 1 (-)	سطح 2 (+)	سطح مرجع (C)
C نوع کاتالیست	آمونوم کلراید	گلايسين	-
P میزان pH	4	5	4/5
T زمان واکنش (دقیقه)	60	120	90
R غلظت کاتالیست (مولار)	0/5	2	1/25

پس از اتمام زمان مشخص شده (جدول 2) برای هر واکنش، به محصول واکنش مقدار 50 میلی لیتر آب (دمای 25 درجه سلسیوس) به منظور کاهش دمای ناگهانی اضافه شد. محتویات بعد از سانتریفوژ با دور 7000 دور بر دقیقه به دستگاه تبخیرکننده تحت خلأ منتقل شدند و حلال آن در دمای 50 درجه سلسیوس و دور 150 دور بر دقیقه جدا گردید.

روش تولید ریزکپسول

تولید ریزکپسول مشابه روش ارائه شده توسط Hashemiravan و همکاران (2013)، حجتی و همکاران (1392) و شرایی و همکاران (1394) به صورت زیر انجام شد:

آماده‌سازی مواد دیواره: ابتدا محلول مواد دیواره با حل شدن صمغ عربی یا مالتودکسترین در آب مقطر به منظور دستیابی به 20 درصد وزنی ماده خشک تهیه شده و توسط همزن مغناطیسی به مدت 30 دقیقه در دمای 60 درجه سلسیوس همزده می‌شوند.

تهیه میکرومولسیون: رنگ مایع تولید شده به همراه چند قطره توئین 80 به عنوان امولسیفایر، به مواد پوشش‌دهنده اضافه شد (به نسبت 1 به 4 (هسته: دیواره)) و سپس توسط همزن مغناطیسی به مدت 15 دقیقه همزده شدند.

خشک کردن انجمادی میکرومولسیون‌ها: میکرومولسیون‌ها پس از قرارگیری به مدت 24 ساعت درون فریزر با دمای -70 درجه سلسیوس، به خشک‌کن انجمادی آزمایشگاهی (مدل ALPHA 1-2 LD PLUS، آلمان) منتقل و خشک گردیدند. نمونه‌های پودری به ظروف شیشه‌ای تیره منتقل و در دمای 4 درجه سلسیوس جهت آنالیزهای بیشتر نگهداری شدند.

آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی

آزمون‌های ضروری به منظور بررسی کیفیت رنگ‌های کارامل

- 1 Hue index
- 1 Indicator Value
- 2 Haze point
- 3 Gel point

Minitab17 طراحی شدند. در این روش چهار پارامتر نوع کاتالیست، میزان pH، زمان انجام واکنش و غلظت کاتالیست انتخاب گردیدند. سطوح در نظر گرفته شده برای پارامترها در جدول 2 ارائه شده‌اند. با توجه به سطوح تعیین شده و با تطابق بر روش فاکتوریل جزئی، تعداد 12 آزمایش برای هر ماده، با در نظر گرفتن 8 آزمایش اصلی و 4 آزمایش مرجع برای هر طراحی، پیشنهاد می‌شود. 4 آزمایش به‌منظور ارزیابی عملکرد در نقاط مرکزی و برآورد صحت مدل، تکرارپذیری و خطای آزمایش به آزمایش‌ها اضافه شده است.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش‌ها برای رنگ‌های تولید شده در جدول 3 ارائه شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، با انجام آزمایش در شرایط گزارش شده، بیشترین میزان قدرت رنگ‌دهی، 0/174 با ماده اولیه انگور و 0/150 با ماده اولیه خرما به‌دست آمد.

با استفاده از نمودار پارتو، فاکتورهای مهم شناسایی شدند؛ سپس با توجه به مقادیر عددی p و اطمینان از تأثیرگذار بودن فاکتورها و با توجه به پارامترهای باقیمانده در سامانه، در نهایت مدلی برای پیش‌بینی میزان قدرت رنگ‌دهی رنگ کارامل ارائه می‌شود.

ضریب تعیین مدل‌های ارائه شده برای رنگ تولیدی از خرما و انگور به‌ترتیب 0/9693 و 0/9906 است؛ بنابراین می‌توان گفت مدل‌های ارائه شده، میزان قدرت رنگ‌دهی رنگ کارامل را به‌خوبی پیش‌بینی می‌کنند. نتایج تحلیل تجزیه واریانس در جدول 4 آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، مقدار عددی p برای هر دو مدل، کمتر از 0/05 است که این امر، نشان‌دهنده با اهمیت بودن مدل است.

مدل‌های ارائه شده برای شدت رنگ (Abs) رنگ‌های کارامل تولید شده از انگور و خرما با توجه به عوامل مؤثر بر این ویژگی و پس از حذف عوامل غیرمؤثر در مدل به‌ترتیب در معادلات 5 و 6 آورده شده است.

$$\text{Abs} = 0.106 - 0.01P + 0.01875R + 0.03075T - 0.00425P^*T + 0.004R^*T \quad (5)$$

$$\text{Abs} = 0.10413 - 0.01288P + 0.01588T + 0.01038R - 0.01162P^*R - 0.00537T^*R \quad (6)$$

نمودار مقادیر پیش‌بینی شده بر حسب مقادیر آزمایشگاهی مربوط به این مطالعه در شکل‌های 1 و 2 نشان داده شده است. می‌توان گفت مدل تا حد بسیار مطلوبی داده‌ها را پیش‌بینی می‌کند، زیرا داده‌ها بسیار نزدیک به خط 45 درجه قرار گرفته‌اند.

پس از اطمینان از صحت مدل، می‌توان نمودارهای سه‌بعدی پاسخ سامانه بر حسب پارامترهای مؤثر را به کمک نرم‌افزار رسم کرد

کاهنده در شکر خام نیشکر تعیین گردیدند. فاکتورهای رنگی *L، *a و *b که به‌ترتیب معرف میزان درخشندگی، قرمزی و زردی رنگ هستند، با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج مدل Lovibond Tintometer PFX990 اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری رطوبت ذرات، با قرار دادن حدود یک گرم پودر در آن، در دمای 105 درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت به‌دست آمد. پایداری گرمایی رنگ‌های مایع و ریزکپسول‌های تولید شده، با استفاده از دستگاه آنالیز گرماسنج حرارتی¹ (TGA) و گرماسنج پوشی تفاضلی² (DSC) (METTLER TOLEDO، آمریکا) تعیین گردید.

به‌منظور انجام این آزمون ابتدا مقداری از نمونه در یک بوتله آلومینیومی قرار داده شد و گرمادهی با نرخ حرارت‌دهی 10 درجه سلسیوس بر دقیقه در اتمسفر نیتروژن و در محدوده دمای 30 تا 500 درجه سلسیوس صورت گرفت. جهت بررسی مورفولوژی و اندازه نمونه‌های پودری تولید شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی³ (SEM) (TESCAN vegar، جمهوری چک) استفاده شد. بدین منظور، مقدار کمی از نمونه به‌طور کاملاً تصادفی روی صفحه‌ای از جنس استاب آلومینیومی قرار گرفت. پس از آن، نمونه با دستگاه پوشش‌دهنده، با لایه‌ای نازک از جنس طلا به‌منظور ایجاد هدایت الکتریکی مطلوب، پوشش‌دهی شد. سپس از سطح خارجی نمونه با استفاده از اسکن میکروسکوپ الکترونی در ولتاژ 10 کیلوولت و با بزرگنمایی‌های متفاوت تصویربرداری شد. به‌منظور تعیین فازهای شیشه‌ای و یا بلوری در نمونه‌ها از دستگاه پراش اشعه X⁴ (XRD) استفاده شد. تصاویر پراش نمونه‌ها توسط دستگاه پراش‌سنج مدل Bruker D8 (Billerica, MA, USA) در دمای اتاق و با تشعشع آند مس (طول موج 1/54 آنگستروم)، ولتاژ 40 کیلووات، جریان 40 میلی‌آمپر، سرعت زاویه‌ای 0/05 درجه بر ثانیه و تحت زاویه تابش بین 10 تا 70 درجه به‌دست آمد. بازده ریزپوشانی بر اساس رابطه ارائه شده توسط Kaushik و همکاران (2007)، به‌دست می‌آید:

$$MY\% = \left(\frac{M_2}{M_1}\right) \times 100 \quad (4)$$

(MY): بازده ریزپوشانی

(M₂): میزان ریزکپسول حاصله

(M₁): مقدار کل ماده جامد ورودی به خشک‌کن

میزان رنگدانه سطحی نیز از پارامترهایی است که برای ترکیبات رنگی چربی دوست محاسبه شده است (Barbosa, Shu, 2006; Loksuwan, 2007, 2005).

برای مطالعه آثار متغیرهای مؤثر بر روی شدت رنگ کارامل تولید شده، آزمایش‌ها به کمک روش فاکتوریل جزئی و نرم‌افزار

1 Thermogravimetric analysis

2 Differential Scanning Calorimeter

3 Scanning Electron Microscope

4 X-ray Diffraction

تولید شده شدت رنگ بیشتری دارد (Scret, 2011). مطابق با شکل‌های 3 (ب) و 4 (الف) می‌توان دریافت که با افزایش میزان pH محیط واکنش، شدت رنگ کاهش یافته است. با توجه به اینکه در محیط با pH کمتر، آنیون اسیدهای ضعیف اضافه شده بیشتر هستند و این آنیون‌ها تشکیل رنگ را تسریع می‌بخشند، افزایش شدت رنگ با کاهش pH قابل توجیه است (Scret, 2011).

ویژگی‌های کلی رنگ‌ها

با توجه به جدول 3، نمونه‌های تولید شده با شرایط آزمایش 6 دارای بیشترین شدت رنگ هستند؛ بنابراین برخی از مهمترین ویژگی‌های آنها تعیین و در جدول 5 آورده شده است. ویژگی‌های به‌دست‌آمده برای رنگ‌ها نشان می‌دهد رنگ‌ها از نظر پارامترهایی مانند شدت رنگ، میزان مواد جامد محلول و مقدار نیتروژن در محدوده استاندارد تعیین‌شده طبق استاندارد ارائه‌شده توسط سازمان مشترک غذا و دارو و سلامت جهانی هستند.

که به‌ترتیب در شکل‌های 3 و 4 نشان داده‌شده‌اند. همانگونه که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت کاتالیست، شدت رنگ افزایش پیدا می‌کند. ترکیبات آمونومی، دهیدراته شدن کربوهیدرات‌ها را سریعتر و راحت‌تر آغاز می‌کنند بنابراین در مدت زمان ثابت غلظت بالاتر کاتالیست سرعت واکنش قهوه‌ای شدن بیشتری دارد و در نتیجه آن رنگدانه‌های بیشتری تولید می‌شوند (Myers et al., 1992). علاوه بر این تجزیه جزء دارای جرم مولکولی بالای رنگ، نشان داده است که نیتروژن در ساختمان اجزای این بخش شرکت دارد (رضایی مکرم، 1374). بنابراین رابطه مستقیم افزایش غلظت کاتالیست آمونومی و تشکیل رنگی با شدت رنگ بیشتر، روشن‌تر می‌شود. در شکل‌های 3 (الف)، 3 (ب) و 4 (ب) می‌توان اثر مطلوب افزایش زمان در واکنش کاراملیزاسیون را مشاهده کرد. در واقع در زمان‌های کمتر، هنوز ترکیبات نیتروژنی حذف نشده‌اند؛ رنگ تشکیل‌شده محصول واکنش مایلارد است، باید زمان بگذرد تا محصولات با جرم مولکولی بالا تشکیل شوند و از نظر کمی ملانوییدین‌های بیشتری تولید گردند. با گذشت زمان در حقیقت، درجه پلیمریزاسیون افزایش می‌یابد و رنگ

جدول 3- شدت رنگ محصول تولید شده از انگور و خرما

شماره آزمایش	نوع کاتالیست	زمان	غلظت کاتالیست	میزان pH	میزان جذب محلول 0/1	درصد در طول موج 610 نانومتر
					رنگ تولید شده از انگور	رنگ تولید شده از خرما
1	+	+	-	-	0/128	0/120
2	+	-	-	+	0/054	0/075
3	-	-	+	+	0/085	0/08
4	-	-	-	-	0/067	0/07
5	-	+	-	+	0/1	0/11
6	-	+	+	-	0/174	0/150
7	+	-	+	-	0/095	0/128
8	+	+	+	+	0/145	0/1
9	-	C	C	C	0/09	0/095
10	-	C	C	C	0/1	0/087
11	+	C	C	C	0/095	0/096
12	+	C	C	C	0/085	0/082

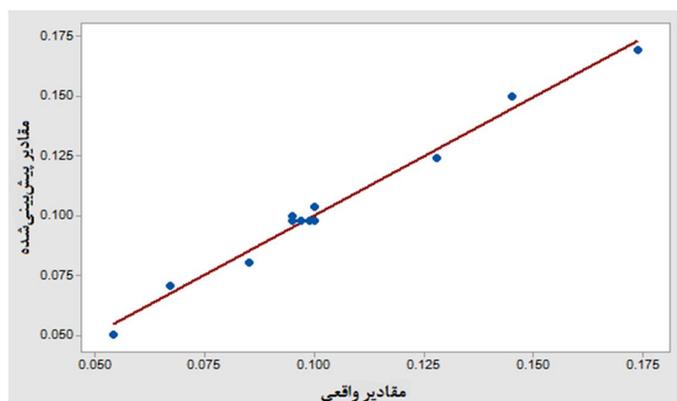
جدول 4- نتایج تحلیل تجزیه واریانس مربوط به معادله مدل

مشخصه	درجه آزادی		مجموع مربعات تعدیل‌شده		میانگین مربعات تعدیل‌شده		مقدار F		مقدار P	
	D	G*	D	G	D	G	D	G	D	G
مدل	6	6	0/011918	0/006048	0/001986	0/001008	87/69	26/35	0/000	0/000
اثر اصلی	3	3	0/011177	0/004203	0/003726	0/001401	164/49	36/63	0/000	0/001
آثار دوتایی	2	2	0/000273	0/001312	0/000136	0/000656	6/02	17/15	0/047	0/006
خطای باقیمانده	5	5	0/000113	0/000191	0/000023	0/000038				
کل	11	11	0/012031	0/006239						

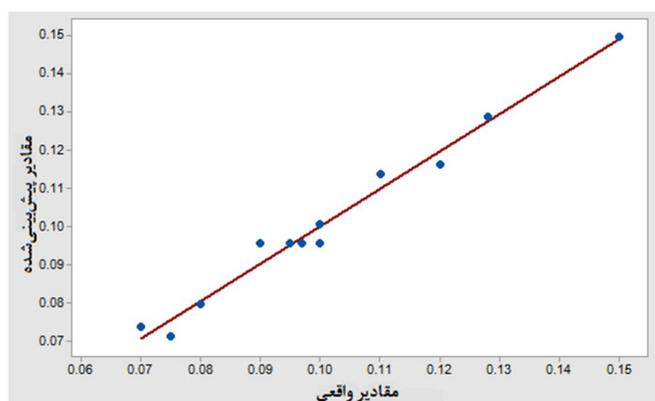
G: ضریب تعیین 0/9906، ضریب تعیین تعدیل‌شده 0/9967، ضریب تعیین پیش‌بینی‌شده 0/9943

D: ضریب تعیین 0/9906، ضریب تعیین تعدیل‌شده 0/9584، ضریب تعیین پیش‌بینی‌شده 0/8265

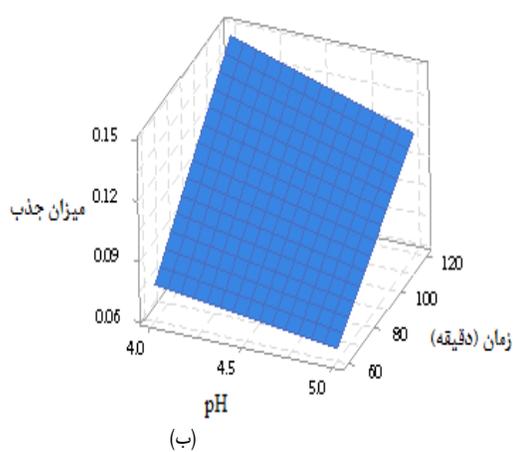
D*: رنگ تولیدشده از خرما، G: رنگ تولیدشده از انگور



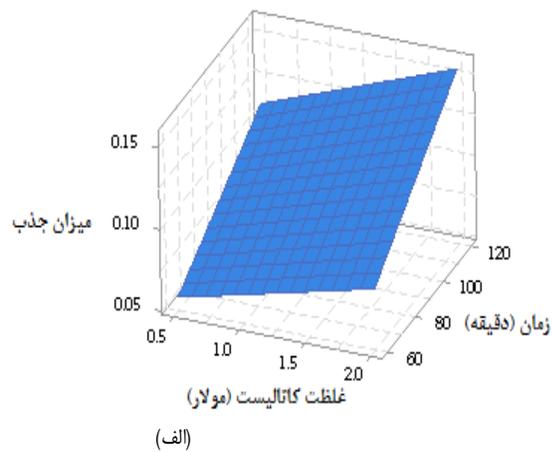
شکل 1- نمودار مقادیر پیش‌بینی شده بر حسب مقادیر واقعی (رنگ تولیدشده از انگور)



شکل 2- نمودار مقادیر پیش‌بینی شده بر حسب مقادیر واقعی (رنگ تولیدشده از خرما)

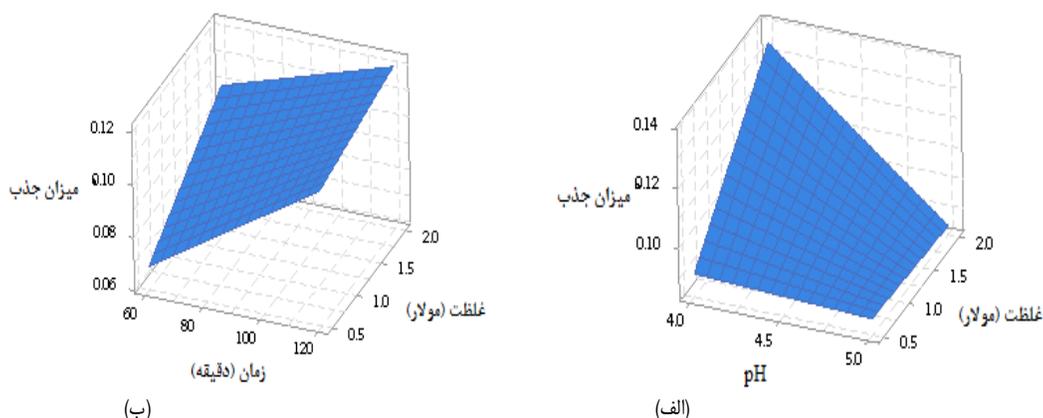


(ب)



(الف)

شکل 3- میزان جذب رنگ تولید شده از انگور (الف) تأثیر غلظت کاتالیست و زمان واکنش (pH=4/5) (ب) تأثیر میزان pH و زمان واکنش (غلظت کاتالیست: 1/25 مولار)



شکل 4- میزان جذب رنگ تولید شده از خرما (الف) تأثیر میزان pH و غلظت کاتالیست (زمان واکنش: 90 دقیقه) (ب) تأثیر زمان واکنش و غلظت کاتالیست (pH=4/5)

جدول 5- مهمترین ویژگی‌های رنگ‌های کارامل

ویژگی اندازه‌گیری شده	استاندارد	شاهد	رنگ تولید شده از انگور	رنگ تولید شده از خرما
شدت رنگ	0/08-0/36	0/2	0/174	0/15
قدرت رنگ‌دهی بر اساس واحدهای EBC	16000-54000	38400	33400	28800
میزان مواد جامد محلول (درصد)	53-83	70/6	60	54
مقدار نیتروژن (درصد)	1/3-6/8	2/1	1/5	1/4
بار یونی	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت
عدد شاخص حساسیت	-	1/02	1/07	0/9
نقطه کدورت	-	2ساعت و 15 دقیقه	2 ساعت و 30 دقیقه	2 ساعت
نقطه ژل	-	2ساعت و 30 دقیقه	2 ساعت و 45 دقیقه	2 ساعت و 15 دقیقه
شاخص رنگ	-	4/74	4/6	4/15
ویسکوزیته (سنتی‌بواز)	-	1000	7000	10,000
پروتئین	-	13/125	9/375	8/75
فاکتور L*	-	3/24	8/45	4/52
فاکتور a*	-	2/71	0/97	0/54
فاکتور b*	-	3/87	1/43	0/018

طیف جذبی رنگ‌ها

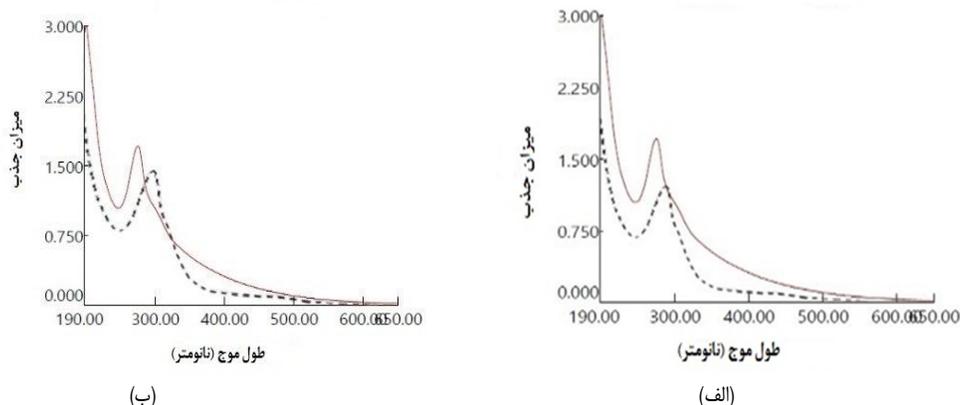
طول موج حداکثر جذب برای رنگ‌های تولید شده از انگور، خرما و شاهد، با اندازه‌گیری طیف جذبی آنها در محدوده 190 تا 600 نانومتر، مطابق شکل 5 به ترتیب 286، 282 و 274 نانومتر به دست آمد. بنابراین نوع رنگ در رنگ‌های تولید شده و شاهد تقریباً یکسان است. اگرچه طیف‌های جذبی نمونه‌ها کمی متفاوت هستند اما طول موج حداکثر جذب آنها بین 270 تا 300 نانومتر است که با نتیجه بیان شده توسط Benhura و همکاران (1999) مطابقت دارد. خصوصیات مربوط به طیف جذب رنگ می‌تواند تحت تأثیر ماهیت مواد اولیه و شرایط فرآیند باشد.

پایداری گرمایی رنگ‌های تولیدشده

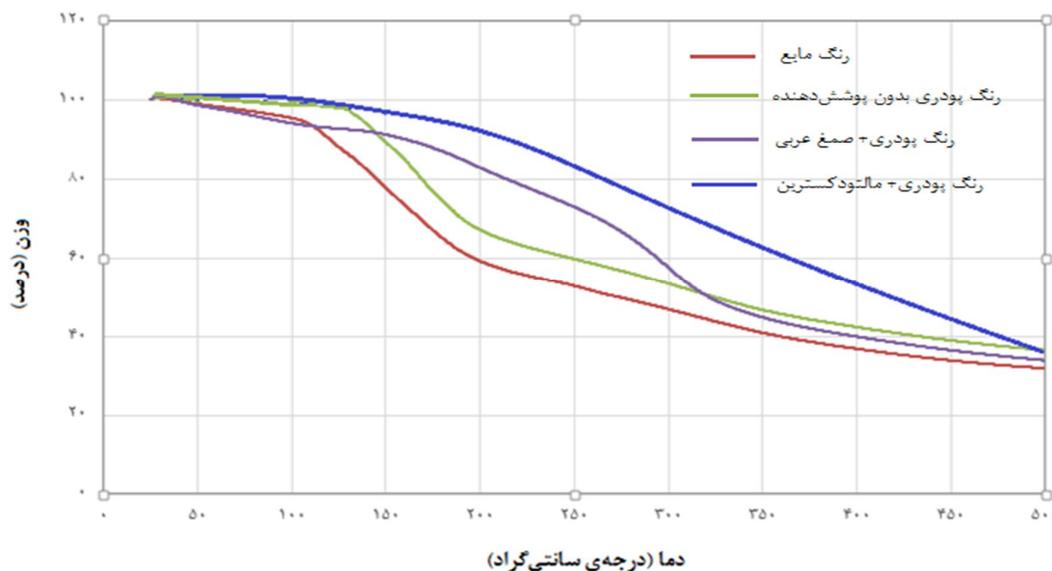
در شکل‌های 6 و 7 منحنی‌های کاهش وزن رنگ‌های کارامل به‌عنوان تابعی از دما نشان داده شده است. در شکل 6، ملاحظه می‌شود که منحنی مربوط به رنگ کارامل مایع در حد فاصل دمایی 114 تا 183 درجه سلسیوس، کاهش وزن شدید دارد که در این بازه حدود 41/3 درصد وزن نمونه کاهش یافته و حدود 58/7 درصد باقی مانده است. در منحنی مربوط به رنگ پودری بدون پوشش‌دهنده مشاهده می‌شود که در حد فاصل دمایی 138 تا 191 درجه سلسیوس، حدود 40 درصد از وزن پودر کارامل کم شده است. در منحنی مربوط به رنگ کارامل تولید شده از انگور و ریزپوشانی‌شده توسط صمغ عربی ملاحظه می‌شود که در حد فاصل دمایی 161 تا 205 درجه

علت تقابل رنگ و پوشش‌دهنده که از رنگ محافظت می‌کند، منجر به افزایش دمای شروع کاهش وزن رنگ گردیده است. ریفتو و همکاران نیز گزارش داده‌اند که مالتودکسترین و صمغ عربی منجر به افزایش پایداری *Acerola* می‌گردد (Andra et al., 2005).

سلسیوس کاهش وزن وجود دارد که در این بازه حدود 22 درصد وزن نمونه کاهش یافته و حدود 77 درصد باقی مانده است. در منحنی، مربوط به رنگ کارامل تولید شده از انگور و ریزپوشانی شده توسط مالتودکسترین از دمای 187 درجه سلسیوس تخریب نمونه شروع شده است. همانطور که مشاهده می‌شود مالتودکسترین و صمغ عربی به



شکل 5- طیف جذبی رنگ‌های کارامل (الف) رنگ تولید شده از انگور (- -) و نمونه شاهد (-) (ب) رنگ تولید شده از خرما (- -) و نمونه شاهد (-)



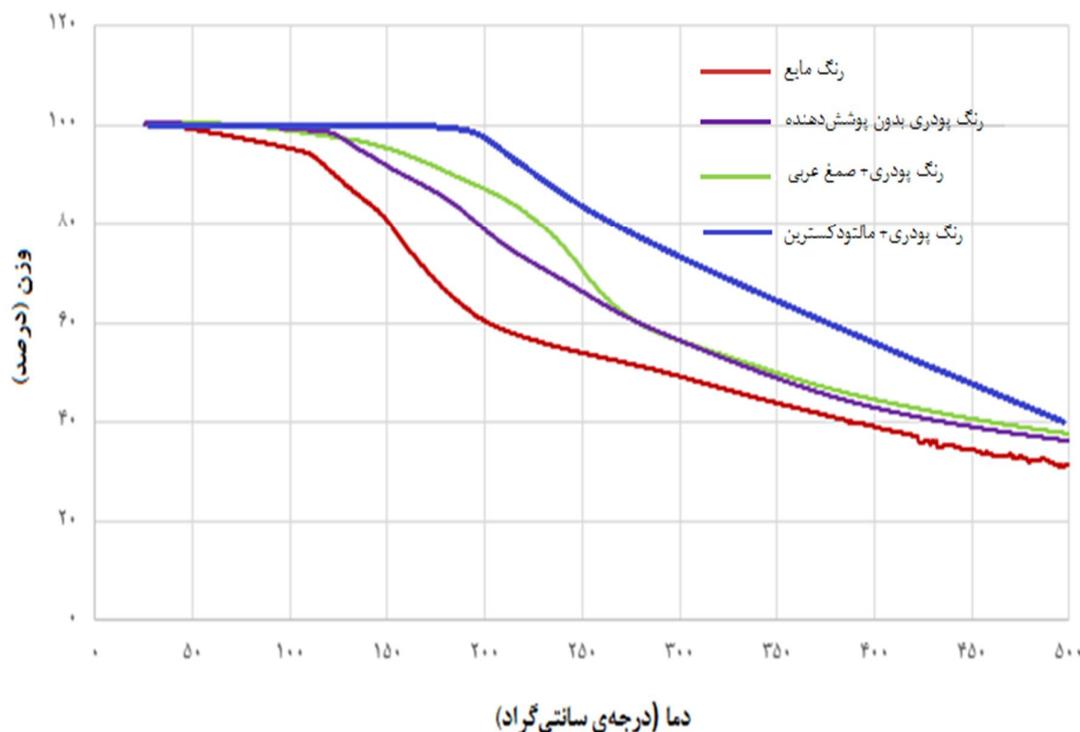
شکل 6- نمودارهای TGA مربوط به رنگ کارامل تولید شده از انگور

184 درجه سلسیوس کاهش وزن وجود دارد که در این بازه حدود 12 درصد وزن نمونه کاهش یافته و حدود 88 درصد باقی مانده است. در منحنی 3 مربوط به رنگ کارامل تولید شده از خرما و ریزپوشانی شده با صمغ عربی در حد فاصل دمای 143 تا 202 درجه سلسیوس، حدود 12 درصد از وزن پودر کارامل کم شده است. در منحنی، در حد فاصل

همانطور که در شکل 7 مشاهده می‌شود، در منحنی مربوط به رنگ کارامل مایع در حدفاصل دمای 113/9 تا 125/6 درجه سلسیوس کاهش وزن وجود دارد که در این بازه حدود 17 درصد وزن نمونه کاهش یافته و حدود 83 درصد باقی مانده است. در منحنی مربوط به رنگ پودری بدون پوشش‌دهنده، در حدفاصل دمای 131 تا

به گرماگیر بودن فرآیند تبخیر می‌توان ادعا کرد در ابتدا رطوبت کارامل در این بازه دمایی تبخیر شده است و در ادامه به دلیل انجام واکنش‌های شیمیایی در اثر حرارت، بسیاری از مواد معطر و فرار موجود در ساختار پلیمری کارامل از ماده خارج شده‌اند و به همین دلیل کاهش وزن ادامه یافته است. به عبارت دیگر می‌توان گفت ذوب همراه با تبخیر در رنگ‌های مایع رخ داده است. در رنگ‌های پودری، قله تشکیل شده تندی کمتری نسبت به حالت مایع دارند و در رنگ‌های انکپسوله شده نیز قله‌های پهن در محدوده دمایی نسبتاً وسیع (130 تا 200 درجه سلسیوس) تشکیل شده است. عدم وجود نقاط ذوب (قله گرماگیر)، در رنگ‌های انکپسوله شده، نشان دهنده نقش صمغ عربی و مالتودکسترین به‌عنوان عامل محافظت‌کننده است (Nalawade et al., 2016; Delgado et al., 2016). با توجه به اینکه در نمونه‌های انکپسوله شده، قله گرمازا یا گرماگیر وجود ندارد، می‌توان نتیجه گرفت تغییر فاز در اثر حرارت‌دهی در رنگ‌های پودری رخ نداده است.

دمای 185 تا 300 درجه سلسیوس، حدود 34 درصد از وزن پودر کارامل کم شده است. همانطور که مشاهده می‌شود برای رنگ کارامل تولید شده از خرما نیز مالتودکسترین و صمغ عربی به علت تقابل رنگ و پوشش‌دهنده که از رنگ محافظت می‌کند، منجر به افزایش دمای شروع کاهش وزن رنگ گردیده است. بنابراین از مقایسه نمودارها می‌توان دریافت که نمونه‌های پودری، پایداری گرمایی بیشتری نسبت به نمونه‌های مایع دارند. همچنین از مقایسه نمونه‌های پودر شده بدون پوشش‌دهنده و همراه با پوشش‌دهنده می‌توان به اثر مثبت ریزپوشانی رنگ‌ها با مالتودکسترین و صمغ عربی نیز پی برد، زیرا ریزکپسول‌های تولید شده همراه با پوشش‌دهنده، در دماهای بالاتری نسبت به پودرهای بدون پوشش‌دهنده تخریب می‌شوند (Delgado et al., 2002). شکل‌های 8 و 9 نمودارهای حرارتی به‌دست‌آمده از DSC را نشان می‌دهند. همانطور که در نمودارها مشخص است، برای رنگ کارامل مایع تولید شده از انگور و خرما یک پیک تند رو به پایین به‌ترتیب در دمای 122 درجه سلسیوس و 127 درجه سلسیوس وجود دارد که این امر نشان‌دهنده این حقیقت است که فرآیند کاهش وزن گرماگیر بوده است. با توجه

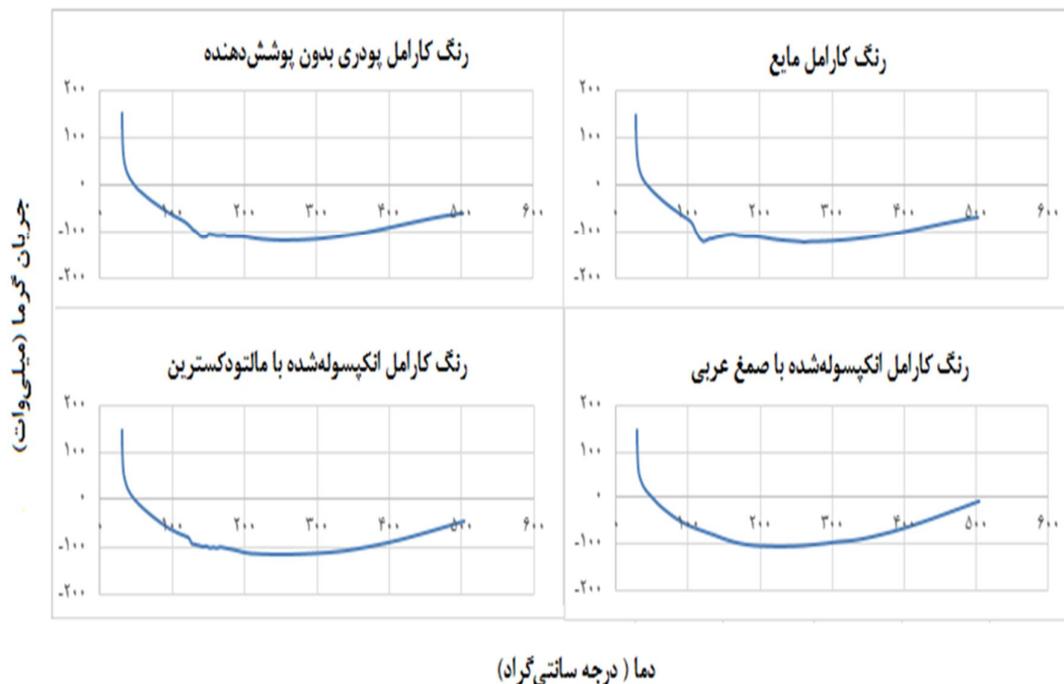


شکل 7- نمودارهای TGA مربوط به رنگ کارامل تولید شده از خرما

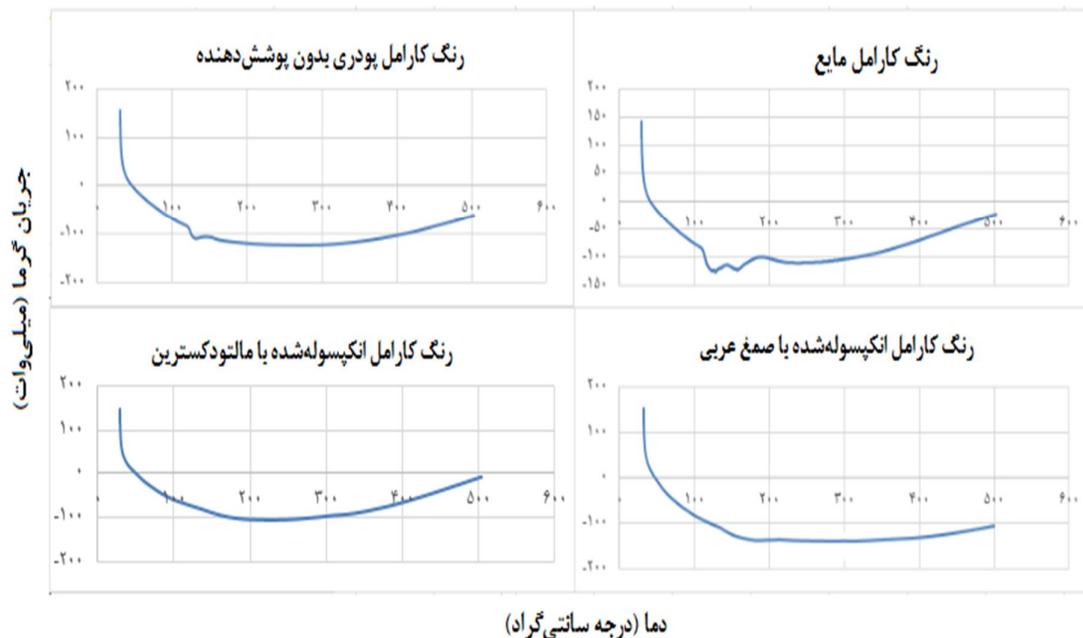
بررسی مورفولوژی و اندازه ریزکپسول‌ها

تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی برای ریزکپسول‌های تولید شده در شکل‌های 10 و 11 ارائه شده است. ترکیب دیواره، روش خشک کردن و سرعت خشک شدن به‌ویژه در مراحل اولیه، می‌تواند بر ویژگی‌های سطحی ریزساختار مواد ریزپوشانی شده تأثیر بگذارند (شرایعی و همکاران، 1392). همانطور که در شکل‌ها مشخص است، ریزکپسول‌های حاصل دارای شکل هندسی مشخصی نیستند و ساختاری متورق و پرکمانند دارند در فرآیند خشک کردن انجمادی، ابتدا ماده منجمد می‌شود سپس با کاهش فشار محیط، آب منجمد شده در نمونه بدون تغییر فاز و به‌صورت مستقیم تصعید می‌گردد. در نتیجه ساختار ترکیبات حاصل عمدتاً متخلخل، متورق و پرکمانند است (Fang et al., 2010). ریزساختارهای تشکیل شده با خشک‌کن انجمادی عمدتاً ساختاری نامتقارن دارند که با مطلب ذکر شده توسط Khazaei و همکاران (2014) مطابقت دارد. شکل‌های نامنظمی که در طی آبیگری مواد خشک‌شده تشکیل شدند و در تصاویر میکروسکوپ الکترونی مشخص هستند، رنگدانه‌ها را از قرارگیری در معرض حرارت و اکسیژن محافظت نمایند (Roos et al., 1995). مقایسه تصویرهای الکترونی نشان می‌دهد که نوع دیواره بر ساختار فیزیکی ریزکپسول‌ها مؤثر است. در این‌جا دیده می‌شود صمغ عربی باعث ایجاد شکل‌های زاویه‌دارتری شده‌است. ذرات با سطح سخت‌تر در خواص سیالیت مشکل ایجاد می‌کنند. علاوه بر این،

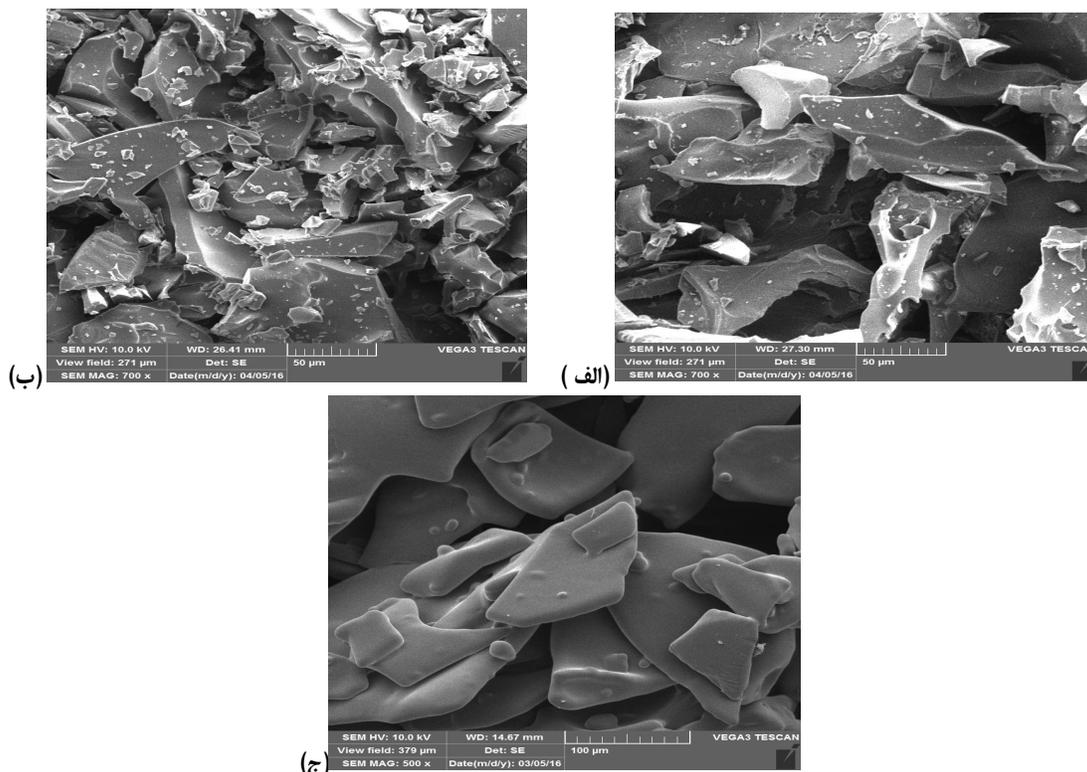
ریزکپسول‌های با سطوح سخت، دارای سطح تماس بیشتری نسبت به آنهایی که سطوح صاف دارند، هستند که باعث می‌شود بیشتر مستعد قرارگیری در معرض واکنش‌های تجزیه مثل اکسیداسیون باشند (Silva et al., 2013). صمغ عربی جامدهای شکننده‌تری را بوجود آورده است که در طی خرد کردن ذرات ریزتری بوجود می‌آید. ریزکپسول‌های تولید شده با هسته رنگ کارامل خرما و دیواره صمغ عربی قطر کمتری نسبت به ریزکپسول‌های تولید شده با هسته رنگ کارامل انگور و دیواره صمغ عربی دارند. مالتودکسترین منجر به تشکیل ریزکپسول‌های یکنواخت‌تری می‌گردد. مالتودکسترین با توجه به دکستروز بالای موجود در آن، به علت داشتن مقادیر زیادی ساکاروز با وزن مولکولی کم دارای خاصیت انعطاف‌پذیری بوده و این ویژگی در شکل‌گیری ذرات گردتر و صاف‌تر مؤثر است (حجتی و همکاران، 1392). ریزکپسول‌های تولید شده با هسته رنگ کارامل خرما و دیواره مالتودکسترین قطر کمتری نسبت به ریزکپسول‌های تولید شده با هسته رنگ کارامل انگور و دیواره مالتودکسترین دارند. رنگ کارامل تولید شده از خرما و ریزپوشانی شده با مالتودکسترین ذرات گردتری را تشکیل داده‌اند و بازده فرآیند آن بیشتر است. برخی ویژگی‌های ریزکپسول‌های تولید شده در جدول 6 گزارش شده است. نتایج آزمون‌های SEM که در جدول 6 آورده شده است نشان می‌دهد ریزپوشانی رنگ کارامل با پوشش‌دهنده‌های صمغ عربی و مالتودکسترین موجب کاهش اندازه ذرات می‌گردد.



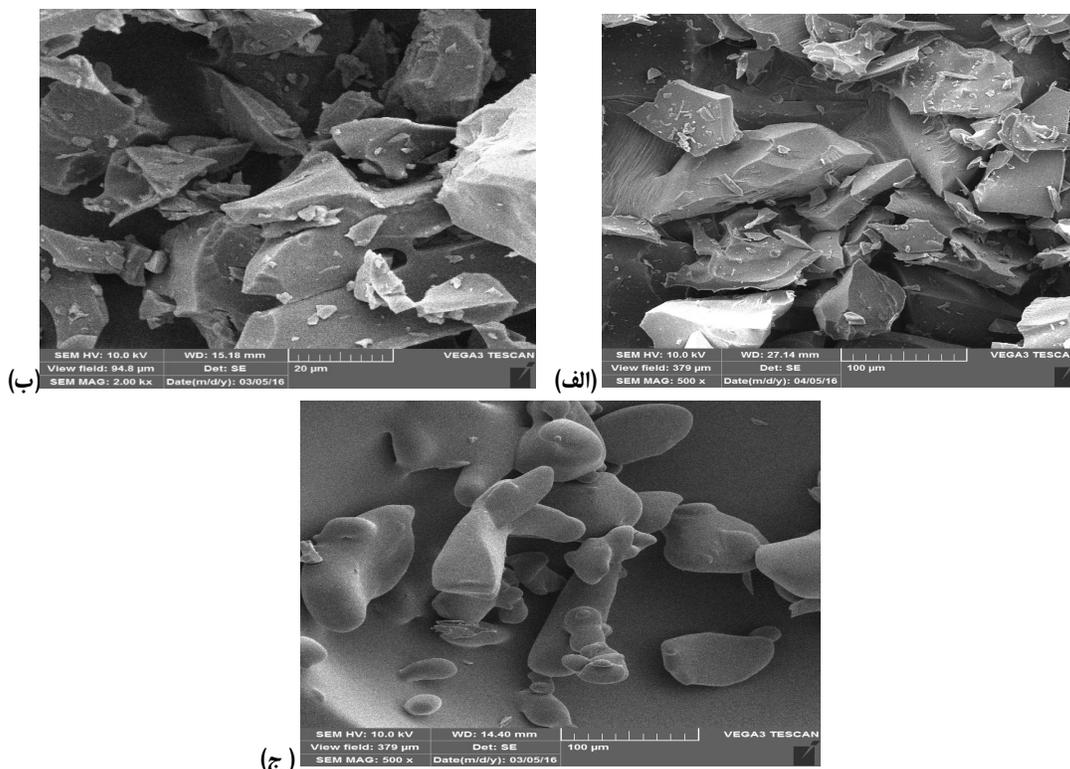
شکل 8- نمودارهای DSC مربوط به رنگ کارامل تولید شده از انگور



شکل 9 - نمودارهای DSC مربوط به رنگ کارامل تولید شده از خرما



شکل 10 - تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی ریزکپسول های تولید شده از انگور با بزرگنمایی های متفاوت - (الف): رنگ بدون پوشش دهنده (ب): ریزکپسول حاوی صمغ عربی (ج): ریزکپسول حاوی مالتودکسترین



شکل 11- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی ریزکپسول‌های تولید شده از خرما با بزرگنمایی‌های متفاوت (الف): رنگ بدون پوشش‌دهنده (ب): ریزکپسول حاوی صمغ عربی (ج): ریزکپسول حاوی مالتودکسترین

جدول 6- مقایسه برخی ویژگی‌های ریزکپسول‌های کارامل تهیه شده با ترکیبات دیواره مختلف

ترکیب دیواره	متوسط اندازه ذرات (میکرومتر)		میزان رطوبت (%)		بازدهی فرآیند (%)	
	رنگ تولید شده از انگور	رنگ تولید شده از خرما	رنگ تولید شده از انگور	رنگ تولید شده از خرما	رنگ تولید شده از انگور	رنگ تولید شده از خرما
بدون پوشش‌دهنده	80	73	4/6	3/7	60	65
صمغ عربی	20	11	2/3	1/8	70	78
مالتودکسترین	55	50	3/5	2/4	73	81

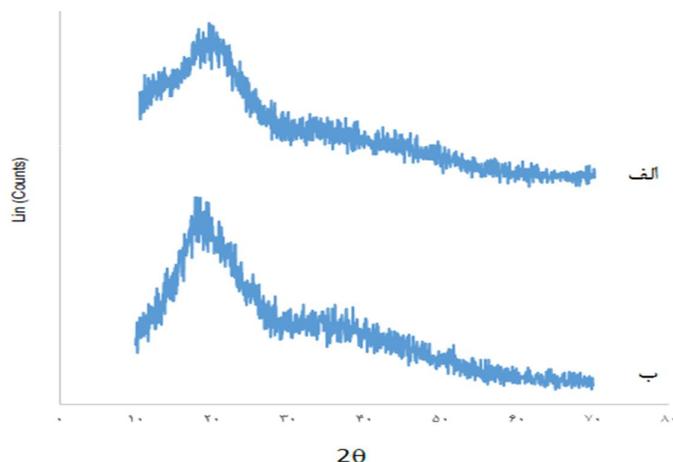
بالاتر نسبت به مواد بلورین، سرعت انحلال بیشتری نیز دارند. نتایج نشان داد انکپسوله کردن رنگ کارامل با مالتودکسترین و با روش خشک‌کن انجمادی منجر به تولید رنگی پایدار بدون تغییر در ساختار آمورف می‌گردد. نتیجه‌ی به دست آمده با نتیجه گزارش شده توسط Cardoso و همکاران (2004) مطابقت دارد.

برخی ویژگی‌های رنگ‌های کارامل گزارش شده در پژوهش‌های پیشین و پژوهش حاضر در جدول 7 آورده شده است. نتایج گزارش شده مربوط به رنگ کارامل به فرم مایع است و نشان می‌دهد رنگ‌های کارامل تولید شده در این تحقیق از نظر بیشینه طول موج و مقاومت به اسیدفسفریک مشابه با تحقیقات قبلی هستند و میزان نیتروژن نیز در محدوده استاندارد قرار دارد. ویسکوزیته رنگ تولید شده از خرما در مقایسه با پژوهش قبلی بیشتر است؛ علت این امر

طیف‌سنج پراش اشعه X (XRD)

با توجه به جدول 6 مشاهده می‌شود بیشترین میزان بازده فرآیند ریزپوشانی مربوط به ریزکپسول کارامل تولید شده از خرما و تهیه شده با مالتودکسترین است. از این رو تست XRD مربوط به رنگ کارامل تولید شده از خرما (بدون پوشش‌دهنده) و رنگ کارامل انکپسوله‌شده با مالتودکسترین انجام شد و در شکل 12 گزارش شده است. عدم وجود قله شاخص و شدید در شکل، نشان‌دهنده عدم وجود بلورینگی و ساختار شیشه‌ای رنگ کارامل است. سیگنال‌های زیاد، مربوط به تنها یک قله عریض برای هر دو نمونه در زاویه $2\theta=15-25$ نشان داد که رنگ کارامل بعد از 6 ماه نگهداری در دمای اتاق همچنان در فاز آمورف قرار دارد. همانطور که Cano-Chauca و همکاران (2005) گزارش دادند، مواد جامد آمورف علاوه بر انحلال‌پذیری

وابستگی میزان ویسکوزیته رنگ، به نوع ماده اولیه به کار گرفته شده است.



شکل 12- طیف XRD (الف): رنگ کارامل پودری تولید شده از خرما، (ب): رنگ کارامل انکپسوله شده با مالتودکسترین

جدول 7- مقایسه تحقیقات صورت گرفته بر تولید رنگ کارامل

مرجع پارامتر	Benhura و همکاران (1999)	Al-Abid و همکاران (2007)	این پژوهش (رنگ تولید شده از انگور)	این پژوهش (رنگ تولید شده از خرما)
طول موج حداکثر جذب (نانومتر)	270-300	-	286	282
نقطه‌ی کدورت	-	2 ساعت و 15 دقیقه	2 ساعت و 30 دقیقه	2 ساعت
نقطه ژل	-	2 ساعت و 30 دقیقه	2 ساعت و 45 دقیقه	2 ساعت و 15 دقیقه
ویسکوزیته (ستنی پواز)	-	7770	7000	10000
نیترژن (درصد)	0/6	-	1/5	1/4
پروتئین (درصد)	0/26	-	9/38	8/75

نتیجه گیری

در این مطالعه تولید رنگ کارامل از دو منبع طبیعی خرما و برای اولین بار از انگور انجام شد. مدل سازی آماری به دست آمده توسط فاکتوریل جزئی نشان داد که سه عامل زمان واکنش، میزان pH و غلظت کاتالیست بر شدت رنگ کارامل اثرگذار است. از میان متغیرها زمان واکنش و غلظت کاتالیست، با افزایش مقدار، موجب افزایش شدت رنگ و pH موجب کاهش شدت رنگ شدند. رنگ‌های پودری در مقایسه با رنگ‌های مایع پایداری گرمایی بیشتری دارند. همچنین ریزپوشانی پودرها با مواد دیواره‌ای متفاوت، منجر به افزایش دمای شروع کاهش جرم نمونه‌ها می‌گردد. نتایج به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داده‌اند که افزودن مواد پوشش دهنده صمغ عربی و مالتودکسترین به رنگ، منجر به تولید

ذرات با قطر کمتری نسبت به پودرهای بدون پوشش دهنده می‌گردد. بر اساس نتایج این تحقیق مالتودکسترین به عنوان ماده پوشش دهنده منجر به افزایش راندمان ریزپوشانی شد که حاکی از قدرت پوشانندگی بالای آن است. با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی پیرامون ریزپوشانی رنگ‌های کارامل گزارش نشده است امکان مقایسه ویژگی‌های ریزکپسول‌های تولید شده وجود ندارد. نظر به اینکه دو ماده اولیه این پژوهش، منابعی هستند که طبق آمار، سالیانه مقدار قابل توجهی از آنها با توجه به شرایط آب و هوایی مطلوب ایران در کشور کشت و برداشت می‌شوند و از آنجایی که چنین محصولی تاکنون از این دو میوه و به این روش (خشک کن انجمادی) تولید نشده است لذا این تحقیق به عنوان یک روش فرآوری جدید و موثر انگور و خرما به شمار می‌رود.

منابع

- Agyei-Aye, K. Chian, M.X. Lauterbach, J.H. and Moldoveanu, S.C., 2002, the role of the anion in the reaction of reducing sugars with ammonium salts. *Carbohydrate Research*, 337(21), 2273-2277.
- Al-Abid, M. Al-Shoaily, K. Al-Amry, M. and Al-Rawahy, F., 2007, Preparation of caramel colour from dates. Food Processing Laboratory Agricultural Production Research Center, *Ministry of agricultural and fisheries*, 537-541.
- Attokaran, M., 2011, Natural food flavors and colorants. USA: Blackwell Publishing Ltd. and Institute of Food Technologists.
- Barbosa, M.I. Borsarelli, C.D. Mercadante, A.Z., 2005, Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, 38(8), 989-994.
- Benhura, M. Nkosinathi Mbuya, N. and Machirori, E., 1999, Facile formation of caramel colours using the polysaccharide material that is extracted from the fruit of *Azanza garckeana*. *Food Chemistry*, 65, 303-307.
- Burin, V.M. Rossa, P.N. Ferreira-Lima, N.E. Hillmann, M.C. and Boirdignon-Luiz, M.T., 2011, Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(1), 186-193
- Cano-Chauca, M. Stringheta, P.C. Ramos, A.M. and Cal-Vidal, J., 2005, Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 420-428.
- Cardoso, A.V. and De Abreu, W.M., 2004, Water and the glass transition temperature of organic (caramel) glasses. *Journal of Non-crystalline solids*, 348, 51-58.
- Delgado, A.Y.C. Velásquez, H.J.C. and Molina, D.A.R., 2016, Thermal and thermodynamic characterization of a dye powder from liquid turmeric extracts by spray drying. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 69(1), 7854- 7845.
- Delgado, Vargas.F. Paredes-López, O., 2002, Natural colorants for food and nutraceutical uses. United States of America, CRC Press.
- Fang, Z. Bhandari, B., 2010, Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science and Technology*, 21(10), 510-523.
- Fetzer, W. R., 1938, Analysis of caramel color. *Industrial and Engineering Chemistry*, 10, 349-352.
- Harry, M., 1965, Process for preparing caramel color. U.S. Patent 3.214.294.
- Hashemiravan, M. Mazloom, A.S. and Farhadyar, N., 2013, Nano particles of blueberry in inulin and b-Cyclodextrin microencapsules. *International Journal of Nanoscience and Nanotechnolog*, 9(4), 185-192.
- Hojjati, M. Razavi, H. Rezaei, K. Gilani, K., 2013, Effect of wall components on characteristics of natural canthaxanthin microencapsulated using spray-drying. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 8(3), 45-54.
- Huang, K. Zhang, P.J. Hu, B. and Yu, S.J., 2015, the effect of spray drying on sucrose–glycine caramel powder preparation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(7): 2319-27.
- Joint F.A.O and WHO Expert Committee on Food Additives. 2011, Evaluation of certain food additives and contaminants: seventy-fourth [74th] report of the Joint FA.
- Kamuf, W. Nixon, A. Parker, O. Barnum, G. C., 2003, Overview of caramel colors. *Cereal Foods World*, 48(2), 64-69.
- Kaushik, V. Roos, Y.H., 2007, Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic–sucrose–gelatin systems, *LWT-Food Science and Technology*, 40(8), 1381-1391.
- Keramat, J. Malek, S., 2001, Separating of caramel color from Molasses and investigation on characteristics and applications in food industry. *Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 5(1), 175-187.
- Khazaei, K.M. Jafari, S.M. Ghorbani, M. and Kakhki, A.H., 2014, Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate Polymers*, 105, 57-62.
- Klaypradit, W. Huang, Y.W., 2008, Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. *LWT-Food Science and Technology*, 41(6), 1133-1139.
- Loksuwan, J., 2007, Characteristics of microencapsulated beta-carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloid*, 21, 928-935.
- Myers, D. V. Howell, J. C., 1992, Characterization and specification of caramel colours: an overview. *Food and Chemical Toxicology*, 30(5), 359-363.
- Nalawade, P.B. and Gajjar, A.K. 2016, Microencapsulation of lutein extracted from marigold flowers (*Tagetes erecta* L.) using full factorial design. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 33, 75-87.
- Rai, R.V., 2016, Advances in Food Biotechnology book. John Wiley & Sons Ltd.
- Rezaemokaram, R., Production of acid stable caramel color. Master thesis, Tarbiat Modares University.
- Righetto, A. M. & Netto, F. M., 2005, Effect of encapsulating materials on water sorption, glass transition and stability of juice from immature acerola. *International Journal of Food Properties*, 8(2), 337-346.

- Roos, Y., 1995, Characterization of food polymers using state diagrams. *Journal of Food Engineering*, 24(3), 339-360.
- Scret, C., 2011, Accelerated glucose discoloration method-A quick tool for glucose stability assessment. Master thesis in Analytical Chemistry, Lund University.
- Sharayei, P. Eynafshar, S. Kamali, A. and Nyazmand, R., 2014, Effect of type and concentration of wall material on microencapsulated saffron color compounds by freeze drying. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 15 (1), 25- 38.
- Sengar, G. Sharma, H.K., 2014, Food caramels: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 1686- 1696.
- Shu, B. Yu, W. Zhao, Y. Liu, X., 2006, Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 76,664–669.
- Silva, P.I. Stringheta, P.C. Teófilo, R.F. and de Oliveira, I.R.N., 2013, Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 538-544.

Feasibility study on caramel color production from grape and date and Microencapsulation of the color by freeze drying

E, Ghaem Far¹, M. R. Hojjati^{2*}

Received: 2016.10.28

Accepted: 2017.06.10

Introduction: Adding color to Foods can make them more appealing to consumers, to allow consumers to identify what taste to expect from a product, and to protect sensitive flavors from light. Color has always played a vital role in food selection and acceptance, and colorants are added to foods to alleviate color lost during processing. Caramel color, from the palest yellow to the deepest brown, accounts for more than 80% (by weight) of all colorants added to the foods we eat and drink (Sengar, *et al.*, 2014). Because of sensitivity of liquid colors to oxidation, light and heat and difficulties in their handling and incorporating, dried pigments have been developed. Microencapsulation is a technique to package materials in the form of micro- and nano-particles. There are different methods for encapsulation in the food industry. Freeze drying which has a long dehydration period, has been used as a simple technique in encapsulating water-soluble essential oils and natural aromas or drugs (Khazaei, *et al.*, 2014). In this work, in addition to liquid caramel color production, encapsulation of liquid color with freeze drying technique through wall materials of maltodextrin and Arabic gum were carried out. The stability of microencapsulated color was then evaluated.

Materials and Methods: *Rish baba* grape and *Kabkab* date syrup were obtained from local market. Ammonium chloride, citric acid, sodium hydroxide, tween 80, Arabic gum were purchased from Merck (Germany). Glycine and maltodextrin were obtained from Sigma-Aldrich (USA) and Dextrose Company (Iran), respectively. In this study, the effect of factors such as type of catalyst (ammonium chloride-glycine), concentration of catalyst (0.5-2 molar), the pH of reaction (4-5), reaction time (60-120 minutes) on liquid color intensity of caramel produced from two natural sources of date and grape were investigated based on fractional factorial experimental design. For production of liquid caramel color, grape/date syrup was heated while being stirred to 65° C. Catalysts were then added to syrup and heated to 110°C. water was added to reaction product and centrifuged. The solvent was removed by rotary evaporator (IKA HB 10, Germany). The resulting caramel color was stored under refrigeration at 4° C. In order to produce powder of caramel color, wall materials including Arabic gum and maltodextrin were dissolved in distilled water at ambient temperature to obtain 20% total solids concentration and stirred for 30 minutes at 60°C. The mixture of liquid caramel color, tween80, and wall material solution was mixed in a ratio (w/w) of 1:4 (liquid caramel color: wall material) and stirred for 15 minutes. The mixture was then dried in a freeze dryer (ALPHA 1-2 LD PLUS, Germany) for 24 hours. The blank sample was prepared without wall materials and freeze-dried in similar conditions with other samples in 24 hours. Dried materials were collected and stored in brown glass bottles with screwed caps at 4°C until analysis. The powders were characterized using TGA/DSC thermogravimetric analysis (METTLER TOLEDO, USA), scanning electron microscopy (SEM) (TESCAN vegar, Czech Republic) and X-ray diffraction (XRD) (Billerica, MA, USA) to confirm the structural and morphological aspects of powders.

Results & Discussion: The results showed that the type of catalyst had no effect on the intensity of the colors and maximum color intensity (0.174 for color produced from grape and 0.15 for color produced from date) was obtained under these conditions: 120 minutes for reaction time, pH value = 4 and catalyst concentration of 2 molar. Results of thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetric (DSC) indicated the increase of thermal resistance by microencapsulation process so that initial decomposition temperature for liquid form, without wall material, with Arabic gum and with maltodextrin for grape source were 114,138,162,185°C respectively and for date source were 113,131, 143, 180°C respectively. Results of Scanning

1- Department of Chemical Engineering, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

2- Department of Chemical Engineering, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

(* Corresponding Author E-Mail Address: hojjati_m@iaushiraz.ac.ir)

electron microscope demonstrated that size of the powders were 11-55 μm . In conclusion, microencapsulation by freeze drying could be recommended as a suitable method for stabilizing caramel color.

Key Words: Grape, Date, Freeze dryer, Encapsulation, Caramel

بررسی پروفیل اسیدچرب روغن، خواص عملکردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین حاصله از آبکافت آنزیمی اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از آنزیم‌های پروتامکس و نئوتراز

سهیل ریحانی‌پول¹ - سید علی جعفرپور^{2*} - رضا صفری³

تاریخ دریافت: 1394/11/20

تاریخ پذیرش: 1395/08/15

چکیده

هدف از مطالعه حاضر آبکافت پروتئین اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از آنزیم‌های پروتامکس و نئوتراز و مقایسه خواص عملکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو پروتئین آبکافتی تولید شده و همچنین بررسی پروفیل اسیدچرب روغن اندرونه به‌عنوان محصول جانبی فرایند آبکافت می‌باشد. آنزیم پروتامکس نسبت به نئوتراز منجر به تولید پودر پروتئینی، با درجه آبکافت $(34/76 \pm 2/92\%)$ و بازیابی پروتئین $(68/16 \pm 1/98\%)$ بالاتری شد. پروفیل اسیدچرب روغن اندرونه نشان داد که این روغن دارای 34 درصد اسیدچرب تک‌غیراشباع، 34/49 درصد اسیدچرب چندغیراشباع و 31/4 درصد اسیدچرب اشباع است. هر دو پروتئین آبکافتی در تمام pH‌های تحت آزمون به‌جز pH=4 از حلالیت بالایی (بیشتر از 90 درصد) برخوردار بودند. از نظر شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف، پروتئین آبکافتی با پروتامکس نسبت به پروتئین آبکافتی با نئوتراز عملکرد مطلوبتری داشت تا جایی که در pH=6 توانست شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف $200/13 \pm 9/31\%$ و $135/6 \pm 5/64\%$ را به‌خود اختصاص دهد. این دو پروتئین دارای ظرفیت نگهداری آب حدود 4/5 میلی‌لیتر در گرم پروتئین آبکافتی بودند ($p > 0.05$). قدرت مهار رادیکال DPPH پروتئین آبکافتی با پروتامکس به‌طور معنی‌داری بیشتر از پروتئین آبکافتی با نئوتراز بود ($p < 0.05$). اما در مورد قدرت کاهندگی عکس این نتیجه ثبت شد و پروتئین آبکافتی با نئوتراز قدرت کاهندگی بالاتری نسبت به پروتئین آبکافتی حاصل از عمل پروتامکس داشت ($p < 0.05$). در ضمن بین فعالیت چلاته‌کردن پروتئین آبکافتی با نئوتراز $(69/44 \pm 5/49\%)$ و پروتئین آبکافتی حاصل از فعالیت پروتامکس $(62/99 \pm 4/26\%)$ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$).

واژه‌های کلیدی: آبکافت آنزیمی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، روغن اندرونه، خواص عملکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

پرورش (مراکز عرضه) آبزیان است. آبزیان دارای حجم بالای ضایعات از جمله سر، دم، باله‌ها، ستون فقرات و از همه مهم‌تر، اندرونه هستند. چنانچه این ضایعات به‌درستی مدیریت شوند می‌توانند در تولید مواد باارزشی از جمله پودر پروتئین آبکافتی (حاصل آبکافت ضایعات با استفاده از آنزیم‌های پروتئاز) و روغن ماهی (محصول جانبی فرایند آبکافت آنزیمی) مورد استفاده قرار گیرند. پروتئین‌های آبکافتی یک آنتی‌اکسیدان قوی هستند (Elavarasan et al., 2014; Ren et al., 2010) که در صنایع غذایی می‌توانند جایگزین خوبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی باشند. از این پروتئین‌ها می‌توان به‌عنوان ماده کف‌زا در نوشیدنی‌ها استفاده کرد. استفاده از پروتئین‌های آبکافتی در فرمول فرآورده‌های گوشتی به‌واسطه قابلیت نگهداری آب بالا، موجب کاهش آبچک بعد از انجماد زدایی (Kristinsson, 1998) و افزایش بازده پخت (Onodenalore & Shahidi, 1996) می‌گردد.

با رشد روزافزون جمعیت و در پی تلاش مراکز تولید مواد غذایی برای تامین غذا، ضایعات زیادی تولید می‌شود که می‌توان از این ضایعات مواد با ارزش افزوده تولید کرد و آنها را مجدداً به چرخه تولید و مصرف بازگرداند. این کار از دو جهت، یعنی کاهش ضایعات و مسائل اقتصادی حائز اهمیت است. (اویسی‌پور و قمی، 1387). یکی از مراکز که سهم بالایی در تولید ضایعات دارد، کارگاه‌های تکثیر و

1 و 2- به‌ترتیب دانشجو کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.

3- مربی، عضو هیئت علمی پژوهشکده اکولوژی آبزیان دریای خزر، ساری، مازندران، ایران.

* - نویسنده مسئول: (Email: a.jafarpour@gmail.com)

محتوی یخ، به آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شد. این ضایعات توسط همزن، هموژن و تا شروع آزمایش در دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در این پژوهش از دو آنزیم میکروبی نئوتراز (0/8 AU/g) و پروتامکس (1/5 AU/g) برای آبکافت آنزیمی استفاده شد. آنزیم‌های مذکور (Novozymes، دانمارک) از نمایندگی تهیه و تا شروع آزمایش در دمای یخچال (4 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

آماده‌سازی پروتئین‌های آبکافتی

برای انجام فرایند آبکافت، 100 گرم اندرونه هموژن‌شده در ارلن 500 میلی‌لیتری ریخته شد، سپس 200 میلی‌لیتر بافر فسفات با pH=7/4 به ارلن اضافه شد. از آنجا که اندرونه دارای آنزیم‌های داخلی بوده و هدف بررسی اثر آنزیم‌های تجاری است، قبل از اضافه کردن آنزیم‌های تجاری، ارلن‌ها 20 دقیقه در حمام آبی (Memert wnb 29, Germany) با دمای 85 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا آنزیم‌های داخل بافتی غیرفعال شوند. سپس برای اطمینان، pH محتویات کنترل شده و تا 7 (مناسب برای فعالیت دو آنزیم) تنظیم شد. بعد از این مرحله و خنک شدن محتوای ارلن‌ها، آنزیم‌ها به میزان 1/5 درصد (به ازای یک کیلوگرم سوبسترای پروتئین) به مخلوط‌ها اضافه و متعاقب، ارلن‌ها در انکوباتور شیکردار (Cold shaker incubator, TM 65, Iran) با دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سه ساعت آبکافت، ارلن‌ها به مدت 15 دقیقه در دمای 95 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا در این دما آنزیم‌های تجاری غیرفعال شده و واکنش خاتمه یابد. پس از خنک شدن ارلن‌ها، محتوی آنها 20 دقیقه در دمای 10 درجه سانتی-گراد با دور 8000×g، سانتریفوژ (D-78532 Tuttlingen, Germany) شدند. بعد از سانتریفوژ، در فالتون‌ها چهار لایه دیده شد که بالاترین فاز (لایه) روغن است. فرم متیل‌استر این روغن (حاصل از آبکافت اندرونه با پروتامکس) برای مشخص شدن پروفیل اسیدچرب آن به دستگاه کروماتوگرافی گازی (CP 3800 Varian, Holland) تزریق شد. بعد از جدا کردن روغن، فاز زیرین آن که حاوی پروتئین محلول است، ایزوله و با دستگاه خشک‌کن انجمادی (Vaco 2 Zirbus, Germany) به پودر پروتئینی تبدیل شد (Guerard et al., 2002; Ovisipour et al., 2009; Safari et al., 2012; Ovisipour et al., 2010). تولید پودر پروتئینی برای هر آنزیم در سه تکرار انجام گرفت.

ترکیب شیمیایی

اندرونه و پروتئین‌های آبکافتی مشتق‌شده از آنها با استفاده از روش‌های استاندارد AOAC مورد آنالیز شیمیایی قرار گرفتند (AOAC, 2005).

همچنین استفاده از این پروتئین‌ها در فرآورده‌های غذایی با رطوبت متوسط، موجب بهبود ویژگی‌های بافتی آنها خواهد شد (Chiang et al., 1999). روغن ماهی تولید شده به‌عنوان محصول جانبی فرایند آبکافت، سرشار از امگا3 است که فواید زیادی از جمله کاهش کلسترول خون، کمک به سلامت قلب و عروق، رشد سلول‌های مغزی، کاهش وزن و پیشگیری از ایجاد سرطان دارد (Ruxton et al., 2004; Pak, 2005).

برای انجام فرایند آبکافت آنزیمی (بیوشیمیایی) از آنزیم‌های پروتئازی مختلفی استفاده شده است، از جمله این آنزیم‌ها می‌توان به آلکالاژ، پروتامکس، نئوتراز، تریپسین (Diniz & Martin, 1997; Ovisipour et al., 2009)، پاپائین، پانکراتین (Ren et al., 2010; Elavarasan et al., 2005)، بروملاین و فلاورزایم (Shahidi et al., 2005) اشاره کرد. پروتامکس و نئوتراز دو نوع آنزیم پرتتازی میکروبی هستند که به‌ترتیب از دو گونه *Bacillus subtilis* و *Bacillus amyloliquefaciens* استخراج شده و در دامنه شرایط بهینه پیوندهای پپتیدی را تجزیه کرده و از سوبسترای پروتئینی، پودرهای پروتئین آبکافتی تولید می‌کنند (Aspmo et al., 2005); اویسی‌پور و همکاران، (1389).

انتخاب ضایعات ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، به‌واسطه تولید بسیار بالا در کشور، برای این کار قابلیت توجیه بالایی دارد. استفاده از این حجم بالای ضایعات، برای تولید پروتئین آبکافتی و روغن مستلزم مدیریت و تدبیر صحیح برای جمع‌آوری آنهاست، چرا که بخش اعظم این ماهی بدون فراوری به‌دست مصرف‌کننده می‌رسد، بنابراین حجم زیادی از ضایعات، در خانه‌های مردم و رستوران‌ها طی پاک‌کردن، دور ریز و تلف می‌شود. برای حل این مشکل، باید قوانینی وضع شود یا فرهنگ‌سازی صورت گیرد تا ماهی فروشان، ابتدا ضایعات این ماهی را جدا کرده و ماهی را بدون ضایعات و به‌صورت پاک شده به مشتری تحویل دهند. در نهایت با مراجعه به مراکز فروش آبزیان، به‌راحتی می‌توان این ضایعات را جمع‌آوری نمود.

هدف از پژوهش حاضر، آبکافت اندرونه ماهی مذکور با استفاده از دو آنزیم تجاری (نئوتراز و پروتامکس)، بررسی و مقایسه خواص عملکردی (حلالیت، شاخص فعالیت کف‌زایی، پایداری کف و ظرفیت نگهداری آب) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH، قدرت کاهندگی یون فریک و چلاته‌کردن فلزات) دو نوع پروتئین حاصل و ارزیابی پروفیل اسیدچرب روغن تولیدشده به‌عنوان محصول جانبی فرایند آبکافت است.

مواد و روش‌ها

اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از بازار ماهی فروشان شهرستان ساری تهیه و در ظروف درب‌دار

درجه آبکافت فرایند

به منظور تعیین درجه آبکافت، بعد از پایان فرایند آبکافت و سانتریفوژ محلول‌های محتوی پروتئین آبکافتی، 1/5 میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) 20 درصد به 1/5 میلی‌لیتر مایع رویی افزوده شد و محلول حاصل با دور 6700g در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس نیتروژن موجود در فاز رویی¹ جدید (محلول 10 درصد تری‌کلرواستیک‌اسید) به روش بیورت (Layne, 1957) سنجیده شد (برای رسم منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی استفاده شد). درجه آبکافت فرایند از رابطه زیر محاسبه گردید (Hoyle & Merritt, 1994):

$$(1) \quad 100 \times (\text{نیتروژن کل} / \text{نیتروژن موجود در محلول 10 درصد تری‌کلرواستیک‌اسید}) = \text{درصد درجه آبکافت}$$
طول زنجیره پپتیدی (PCL²) و بازیابی پروتئین (PR³)

میانگین طول زنجیره پپتیدی از طریق رابطه زیر (Adler-Nissen & Olsen, 1979) و بازیابی پروتئین به صورت مقدار (گرم) پروتئین آبکافت‌شده نسبت به میزان اولیه پروتئین محاسبه شد (Ovissipour *et al.*, 2009).

$$(2) \quad \text{درجه آبکافت} / \text{PCL} = 100$$

ارزیابی رنگ

رنگ پروتئین‌های آبکافتی با استفاده از دستگاه رنگ سنج (IMG- pardazesh cam- system XI, Iran) در سیستم CIE بر مبنای شاخص‌های L*, a*, b* و W* مورد بررسی قرار گرفت (Kunte *et al.*, 1997).

حلالیت

به منظور محاسبه میزان حلالیت پروتئین آبکافتی در آب، 200 میلی‌گرم از آن با 20 میلی‌لیتر آب دیونیزه مخلوط گردید. سپس با استفاده از اسید و سود 0/2 نرمال، pH محلول حاضر به 2، 4، 6، 8، 10 و 12 رسانده شد. این مخلوط (با pH مشخص) 30 دقیقه در دمای اتاق همزده و سپس 15 دقیقه با دور 7500g سانتریفوژ شد. بعد از سانتریفوژ دو فاز رویی و زیرین ظاهر گردید. پروتئین محلول در فاز رویی از روش بیورت و پروتئین موجود در نمونه بعد از حل شدن آن در سود 0/5 نرمال تعیین شد (Robinson & Hodgen, 1940). حلالیت پروتئین از رابطه زیر به دست آمد:

$$(3) \quad 100 \times (\text{پروتئین کل} / \text{پروتئین محلول در سوپرناتانت}) = \text{حلالیت}$$

شاخص فعالیت کف‌کنندگی (FAI⁴) و پایداری کف (FSI⁵)

برای اندازه‌گیری شاخص فعالیت کف‌کنندگی (کف‌زایی)، 20 میلی‌لیتر محلول 0/5 درصد پروتئین آبکافتی با استفاده از هموژنایزر (Ika, Germany) با سرعت 13500 دور در دقیقه در دمای اتاق به مدت دو دقیقه هموژن شد. نمونه همزده شده به سرعت به سیلندره‌ای مدرج 300 میلی‌لیتری منتقل و حجم مخلوط پس از 30 ثانیه قرائت گردید (Sathe & Salunkhe, 1981). این شاخص به صورت درصد بیان شده و از طریق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$(4) \quad 100 \times (\text{حجم نمونه قبل از همزدن} / \text{حجم نمونه قبل از همزدن} - \text{حجم نمونه بعد از همزدن}) = \text{شاخص فعالیت کف‌کنندگی}$$

نمونه همزده شده، به مدت 30 دقیقه در دمای 20 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و سپس حجم نمونه یادداشت شد. شاخص پایداری کف به صورت درصد بیان شده و از رابطه زیر محاسبه گردید (Sathe & Salunkhe, 1981):

$$(5) \quad 100 \times (\text{حجم نمونه قبل از همزدن} / \text{حجم نمونه قبل از همزدن} - \text{حجم نمونه بعد از قرارگیری در دمای 20 درجه سانتی‌گراد}) = \text{شاخص پایداری کف}$$

ظرفیت نگهداری آب (WHC⁶)

برای اندازه‌گیری این شاخص، 100 میلی‌گرم نمونه پروتئینی با 10 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و در دمای 22 درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه با دور 1800g سانتریفوژ و فاز رویی با خم کردن لوله آزمایش (زاویه 45 درجه) به مدت 10 دقیقه تخلیه شد. اختلاف حجم فاز رویی و حجم اولیه آب (10 میلی‌لیتر) برابر است با ظرفیت نگهداری آب پروتئین آبکافتی. ظرفیت نگهداری آب به صورت میلی‌لیتر آب نگهداری‌شده در گرم پودر پروتئینی بیان می‌شود (Rodríguez-Ambriz *et al.*, 2005).

قدرت مهار رادیکال آزاد 2و2 دیفنیل -1- پیکریل هیدرازول (DPPH)

برای اندازه‌گیری این شاخص، ابتدا محلول 2 میلی‌گرم در میلی‌لیتر پروتئین آبکافتی تهیه شد. این محلول با نسبت برابر به محلول 0/1 میلی‌مولار رادیکال DPPH در اتانول 99/50 اضافه و با سرعت بالا هموژن شد. محلول حاضر به مدت 30 دقیقه در مکان تاریک (داخل کابینت) انکوبه و بعد از این مدت، جذب آن در طول موج 517 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis M51) استفاده شد.

4 Foam Activity Index
5 Foaming Stability Index
6 Water Holding Capacity

1 Supernatant
2 Peptide Chain Length
3 Protein Recovery

آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه 19 استفاده گردید و داده‌ها از طریق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) آنالیز شده و معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌ها توسط آزمون دانکن و t-test در سطح اطمینان 95 درصد مورد بررسی قرار گرفت. برای رسم نمودارها و جداول از نرم‌افزار Excel (2014) استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

مطابق جدول 1، پروتئین‌های آبکافتی دارای مقادیر بالای پروتئین (ازت) هستند. نتایج سایر پژوهش‌ها نیز از وجود درصد بالای پروتئین در پودرهای پروتئینی آبکافتی حکایت دارد (اویسی‌پور و همکاران، 1389؛ بخشان و همکاران، 1393؛ Souissi et al., 2007؛ Taheri et al., 2012 Wasswa et al., 2007). همانطور که در جدول 1 مشاهده می‌شود، میزان پروتئین در پودر پروتئین آبکافتی با پروتامکس (85/40± 1/58%) مقداری بیشتر از پودر پروتئین آبکافتی حاصل از عمل نئوتراز (82/95± 0/7%) است اما اختلاف معنی‌داری از این نظر وجود ندارد (p>0.05). میزان چربی در پروتئین‌های آبکافتی نسبت به سوبسترا به‌صورت چشمگیری کاهش یافت (کمتر از یک درصد). پژوهش‌های متعددی (Shahidi et al., 1995؛ Gbogouri et al., 2004 Pacheco-Aguilar et al., 2008) وجود چربی کمتر از 1 درصد را در پروتئین آبکافتی گزارش کردند. علت کم‌چرب بودن پروتئین‌های آبکافتی را می‌توان اینطور توجیه کرد که استفاده از فرایندهای حرارتی (در آغاز و پایان فرایند آبکافت) و آنزیم موجب تخریب بافت سوبسترا و آزاد شدن چربی آن می‌گردد. این چربی (روغن) بعد از سانتریفوژ مخلوط آبکافت (سوبسترا، بافر و آنزیم) در بالاترین فاز قرار می‌گیرد و برای رسیدن به مایع محتوی پروتئین محلول، این فاز جدا می‌شود. به این ترتیب پروتئین‌های آبکافتی چربی بسیار کمی دارند. همانطور که در جدول 1 مشاهده می‌شود میزان چربی در پودر آبکافتی با نئوتراز (0/91± 0/06%) به‌طور معنی‌داری (p<0.05) بیشتر از پودر حاصل از فعالیت پروتامکس (0/77± 0/05%) است. علت این امر را شاید بتوان در قدرت بیشتر آنزیم پروتامکس نسبت به نئوتراز و در تجزیه بیشتر پیوندهای پپتیدی و آزاد شدن حجم بالاتری از روغن (بالاترین فاز پس از سانتریفوژ) دانست. ضمن اینکه دو پودر پروتئین آبکافتی مقدار رطوبت و خاکستر تقریباً یکسانی دارند (p>0.05).

ارزیابی رنگ پروتئین‌های آبکافتی

رنگ محصولات غذایی یکی از فاکتورهای مهم بازاریابی است (Bueno-Solano et al., 2009). جدول 2 شاخص‌های رنگی هر دو پروتئین آبکافتی را در سیستم CIE نشان می‌دهد، همانطور که مشهود

(Spectrophotometer, Italy) قرائت شد. قدرت مهار رادیکال DPPH پروتئین‌های آبکافتی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Yen & Wu, 1999).

$$(6) \quad 100 \times (\text{جذب شاهد} / \text{جذب نمونه}) - 1 = \text{قدرت مهار رادیکال DPPH آزاد}$$

قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی (فریک)

به‌منظور بررسی قدرت این پروتئین‌ها برای کاهش یون فریک (آهن سه ظرفیتی) به فرو (آهن دو ظرفیتی) ابتدا محلول 40 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروتئین آبکافتی تهیه شد. سپس 1 میلی‌لیتر از محلول آماده‌شده با 2/5 میلی‌لیتر بافر فسفات 0/2 مولار (pH= 6/6) و 2/5 میلی‌لیتر محلول 1% وزنی- حجمی پتاسیم فریسیانید مخلوط گردید. برای انجام واکنش، این محلول به مدت 30 دقیقه در دمای 50 درجه سانتی‌گراد انکوبه و بعد از این مدت به منظور خاتمه‌دادن به واکنش، 2/5 میلی‌لیتر محلول 10 درصد وزنی- حجمی تری کلرواستیک‌اسید به محلول واکنش اضافه گردید. در نهایت 2/5 میلی‌لیتر از این مخلوط با 2/5 میلی‌لیتر آب مقطر و 0/5 میلی‌لیتر فریک کلرید 0/1 درصد ترکیب و 10 دقیقه در دمای محیط انکوبه و سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج 700 نانومتر قرائت شد. جذب بالاتر نشان‌دهنده قدرت کاهندگی بیشتر پروتئین‌های آبکافتی است (Oyaiza, 1986).

فعالیت چلاته‌کنندگی فلزات

برای سنجش این خاصیت در پروتئین‌های آبکافتی، ابتدا محلول 40 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروتئین آبکافتی تهیه شد و یک میلی‌لیتر از آن به 3/7 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. سپس به محلول حاضر 0/1 میلی‌لیتر محلول 2 میلی‌مولار کلرید آهن و 0/2 میلی‌لیتر محلول 5 میلی‌مولار فروزین اضافه و 20 دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. بعد از این مدت، جذب محلول در طول موج 562 نانومتر قرائت و فعالیت چلاته‌کنندگی از طریق رابطه زیر محاسبه گردید (Decker & Welch, 1990):

$$(7) \quad 100 \times (\text{جذب شاهد} / \text{جذب نمونه در طول موج 562 نانومتر} - 1) = \text{فعالیت کلاته کردن فلزات (\%)}$$

برای ساخت شاهد، به‌جای نمونه پروتئینی از آب مقطر استفاده شد. لازم به ذکر است که در سنجش هر سه شاخص فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از بوتیلیدیدروکسی‌تولون (BHT) و بوتیلیدیدروکسی‌آنیزول (BHA) در غلظت 200ppm برای مقایسه استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شده و به‌منظور

یعنی هرچه یک آنزیم تحت شرایط آزمایش قوی‌تر عمل کند و باندهای بیشتری را بشکند، منجر به تولید گرم پروتئین آبکافتی بیشتری می‌شود. در پژوهش حاضر آنزیم پروتامکس منجر به تولید پودر پروتئین آبکافتی با درصد بالاتر بازیابی پروتئین ($68/16 \pm 1/98\%$) نسبت به نتوتراز ($55/26 \pm 2/77\%$) شد ($P < 0.05$). بازیابی پروتئین در چهار پودر پروتئین آبکافتی که از ماهی کاپلین (*Mallotus villosus*) با استفاده از آنزیم‌های پاپائین، نتوتراز، آلکالاز و آنزیم‌های داخلی تولید شده بودند، به ترتیب $57/13 \pm 2/13$ ، $51/6 \pm 1/92$ و $70/6 \pm 1/50$ و $22/9 \pm 1/66$ درصد بود (Shahidi et al., 1995).

ارزیابی پروفیل اسیدچرب روغن اندرونه

جدول 4 پروفیل اسیدچرب روغن اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را نشان می‌دهد. همانطور که پیش‌تر عنوان شد، این روغن محصول جانبی فرایند آبکافت اندرونه با آنزیم پروتامکس است. طبق جدول، پالمیتیک‌اسید، دکوزاهگزانوئیک‌اسید (DHA)، اولئیک‌اسید، ایکوزانوئیک‌اسید و ایکوزاپنتانوئیک‌اسید (EPA) جز اسیدهای چرب اصلی این روغن هستند که سهم هر کدام از آنها 9 تا 17 درصد است. روغن اندرونه از نظر لیگنوسریک‌اسید، اوریک‌اسید و آراشیدیک‌اسید بسیار فقیر است و اسیدهای مذکور از 0/1 تا کمتر از یک درصد این روغن را تشکیل می‌دهند. لازم به ذکر است که در بین اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA)، دکوزاهگزانوئیک‌اسید ($11/29\%$)، در بین اسیدهای چرب تک‌غیراشباع (MUFA)، اولئیک‌اسید ($9/68\%$) و در بین اسیدهای چرب اشباع (SFA)، پالمیتیک‌اسید ($16/49\%$) بیشترین فراوانی را در این روغن داشتند. طبق جدول 4، در مجموع این روغن دارای 34 درصد اسیدچرب تک‌غیراشباع، $34/49$ درصد اشباع و $6/22$ درصد اسیدچرب اشباع می‌باشد. دو اسید چرب امگا3 مهم در روغن ماهی دکوزاهگزانوئیک‌اسید و ایکوزاپنتانوئیک‌اسید هستند. سهم این دو اسید چرب در روغن اندرونه قزل‌آلای به ترتیب $11/29$ و $9/08$ درصد بود (جدول 4). نقش این اسیدهای چرب بر سلامتی انسان غیرقابل انکار است. چرا که از طریق کاهش سطوح تری‌گلسرید و کلسترول خون موجب پیشگیری از بیماریهای قلبی - عروقی می‌شوند. همچنین نقش اسیدهای چرب مذکور در بهبود عملکرد سیستم ایمنی، درمان انواع سرطان، زخم‌های مزمن، ریزش مو، آسم و غیره سال‌هاست که به اثبات رسیده است.

بررسی پروفیل اسیدچرب روغن ماهی کیلکا نشان داد که سهم دکوزاهگزانوئیک‌اسید و ایکوزاپنتانوئیک‌اسید از کل روغن به ترتیب $5/89$ و $6/35$ درصد می‌باشد ضمن اینکه سطح PUFA و MUFA در روغن کیلکا، به ترتیب $21/77$ و $40/74$ درصد است (ملاحمدی و

است این دو پروتئین فقط از نظر شاخص روشنایی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($p < 0.05$) به گونه‌ای که پروتئین آبکافتی با پروتامکس به‌طور معناداری روشن‌تر از پروتئین آبکافتی حاصل از عمل نتوتراز است. آنالیز شاخص‌های رنگی پروتئین آبکافتی تولیدشده از سوسترای پوست ماهی علفخوار⁷ با استفاده از آلکالاز (درجه آبکافت $14/9\%$) نشان داد که این پروتئین دارای شاخص روشنایی $59/3 \pm 0/7$ قرمزی $1/38 \pm 0/8$ - و زردی $26/6 \pm 0/9$ است (Wasswa et al., 2007). این اختلاف در شاخص‌های رنگی پروتئین‌های آبکافتی تهیه شده از سوسترهای مختلف ناشی از عواملی مانند نوع سوستر (گونه ماهی)، نحوه فراوری، محتوی چربی و رطوبت، نور، دما، هموگلوبین، میوگلوبین و سایر پروتئین‌ها و رنگدانه‌هاست (Bueno-Solano et al., 2009). در مورد اثر نوع سوستر در تعیین رنگ پروتئین‌های آبکافتی می‌توان اظهار داشت که، اندرونه قزل‌آلای حاوی رنگدانه‌های متعددی است که می‌توانند در رنگ پروتئین آبکافتی مشتق‌شده از آن بسیار موثر باشند (Taheri et al., 2012).

درجه آبکافت، میانگین طول زنجیره پپتیدی و بازیابی پروتئین

درجه آبکافت یکی از فاکتورهای بسیار مهم فرایند آبکافت می‌باشد و به معنای درصدی از پیوندهای پپتیدی است که توسط آنزیم تجاری طی فرایند آبکافت شکسته می‌شوند. در تحقیق فعلی درجه آبکافت پروتئین آبکافتی با پروتامکس ($34/76 \pm 2/92\%$) به‌طور معناداری ($p < 0.05$) بیشتر از پروتئین آبکافتی با نتوتراز ($27/41 \pm 2/63\%$) می‌باشد (جدول 3). این امر را می‌توان با توجه به قدرت آنزیم‌ها تحت شرایط این آزمایش توجیه کرد. بدین معنی که آنزیم پروتامکس تحت شرایط این آزمایش قوی‌تر از آنزیم نتوتراز عمل کرد و توانست طی سه ساعت، درصد بیشتری از پیوندهای پپتیدی مولکول پروتئین را تجزیه کند. هرچه درجه آبکافت بیشتر باشد، میانگین طول زنجیره پپتیدی کمتر خواهد بود (رابطه عکس). در جدول 3 این امر به وضوح قابل رویت است. همانطور که مشاهده می‌شود، میانگین طول زنجیره پپتیدی پروتئین آبکافتی با پروتامکس به‌طور معناداری ($P < 0.05$) کمتر از پروتئین آبکافتی با نتوتراز است. در تحقیقی که بافت ماهی کپور آب شیرین (*Catla catla*) با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز، بروملاین، فلاورزایم و پروتامکس به ترتیب با نسبت‌های آنزیم به سوسترهای 1، 0/5 و 2 درصد آبکافت شد، بیشترین درجه آبکافت ($12/61\%$) و کمترین طول زنجیره پپتیدی ($7/93$) به پروتئین آبکافتی با پروتامکس تعلق داشت (Elavarasan et al., 2014). یکی دیگر از پارامترهای مهم در بحث آبکافت پروتئین‌ها، بازیافت پروتئین است. این شاخص در واقع نشان‌دهنده نسبت گرم پروتئین آبکافتی تولیدشده به گرم پروتئین سوستر است و مانند درجه آبکافت با قدرت آنزیم رابطه مستقیم دارد.

pH=4، در سایر pHها اختلاف معنی‌داری از این نظر بین دو پروتئین وجود ندارد ($P>0.05$). اختلاف در حلالیت دو پروتئین آبکافتی (در pH یکسان) می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد که از آن جمله می‌توان به تفاوت در وزن مولکولی (Linder et al., Chobert et al., 1988) و نسبت آمینواسیدهای آبدوست و آبگریز (1996) (Gbogouri et al., 2004) پیوندهایی اشاره کرد که در اثر آبکافت با هر آنزیم تولید می‌شوند. شرایطی که بر جذب آب پروتئین اثر منفی می‌گذرانند، سبب کاهش حلالیت آن نیز می‌شوند. البته این یک قانون کلی نیست و همیشه رابطه مستقیمی میان کاهش یا افزایش جذب آب یک پروتئین با کاهش یا افزایش میزان حلالیت وجود ندارد (فاطمی، 1378). همانطور که در جدول 5 مشاهده می‌شود، هر دو پروتئین در pH=4 نسبت به سایر pHها حلالیت کمتری دارند (البته حلالیت پروتئین آبکافتی با پروتامکس در pHهای 4 و 8 اختلاف معنی‌داری ندارد ($p>0.05$)) چرا که این pH در محدوده نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌های این ماهی قرار دارد (Linder Chobert et al., 1988; et al., 1996). همچنین بیشترین میزان حلالیت هر دو پروتئین آبکافتی مربوط به pH=6 است گرچه حلالیت هر کدام از این دو پروتئین در این pH با pHهای ۱۰.۲ و 12 اختلاف معنی‌داری ندارد ($p>0.05$). پروتئین آبکافتی تولید شده از سر و اندرونه ماهی ساردین (*Sardinella aurita*) با استفاده از آنزیم آلکالاز (درجه آبکافت 10/16%) حداقل حلالیت را در pH=3 (زیر 60%) و حداکثر میزان آن را در pH=6 (100%) نشان داد (Souissi et al., 2007). حلالیت پروتئین آبکافتی تولید شده از فیله ماهی *Nemipterus hexodon* با استفاده از آنزیم پپسین (درجه آبکافت 10%) در pHهای 3، 5، 7 و 9 به ترتیب معادل $97/8 \pm 2$ ، $71/2 \pm 1/1$ ، $97 \pm 0/5$ و $96/6 \pm 0/7$ درصد بود (Nalinanon et al., 2011).

همکاران، 1393). همچنین در پژوهشی که پروفیل اسید چرب روغن گوشته ماهی مرکب (*Sepia pharaonis*) ارزیابی شد، میزان PUFA، MUFA، EPA و DHA آن به ترتیب 50/3، 11، 7/6 و 28/3 درصد گزارش شد (Thanonkaew et al., 2006). از مقایسه روغن اندرونه قزل‌آلا و دو روغن مذکور چنین بر می‌آید که ارزش این روغن از نظر غنی بودن از اسیدهای چرب مفید، تقریباً معادل دو روغن دیگر است. نسبت MUFA به PUFA (مقاومت اکسایشی روغن‌ها)، PUFA به SFA (ارزش غذایی روغن‌ها)، امگا3 به امگا6 و DHA به EPA در روغن اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب معادل 0/98، 1/09، 4/54 و 1/24 بود (جدول 4). این نسبت‌ها در روغن گوشته ماهی مرکب (*Sepia pharaonis*) به ترتیب 0/21، 1/43، 3/1 و 3/7 گزارش شدند (Thanonkaew et al., 2006).

حلالیت پروتئین‌های آبکافتی

حلالیت یکی از مهمترین خواص عملکردی پروتئین‌های آبکافتی است که بر سایر خواص از جمله کف‌زایی و پایداری کف، فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون اثرگذار است (Wilding et al., 1984). پروتئین میوفیبریلی دست‌نخورده، در دامنه وسیعی از pH فاقد حلالیت است (Shahidi, 1994 Spinelli et al., 1972) و آبکافت آنزیمی موجب شکستن پروتئین‌ها به پپتیدهای کوچک و افزایش حلالیت آنها می‌شود. در تحقیق حاضر هر دو پروتئین آبکافتی حلالیت بالایی را در آب نشان دادند. نتایج سایر پژوهش‌ها نیز از حلالیت بسیار بالای پروتئین‌های آبکافتی حکایت دارد (Nalinanon et al., 2010; Klompong et al., 2007) (Taheri et al., 2012).

مطابق جدول 5، حلالیت پروتئین آبکافتی با پروتامکس در تمام pHها کمی بیشتر از پروتئین آبکافتی با نئوتراز است اما به غیر از

جدول 1- آنالیز شیمیایی ماده خام و پروتئین‌های آبکافتی حاصل از آن

ماده	پروتئین (%)	چربی (%)	رطوبت (%)	خاکستر (%)
اندرونه قزل‌آلا	16/01 ± 0/31	12/98 ± 0/72	67/12 ± 0/62	3/85 ± 0/42
پروتئین آبکافتی با پروتامکس	85/40 ± 1/58 ^a	0/77 ± 0/05	3/57 ± 0/58 ^a	7/61 ± 0/87 ^a
پروتئین آبکافتی با نئوتراز	82/95 ± 0/7 ^a	0/91 ± 0/06 ^b	3/49 ± 0/35 ^a	7/44 ± 0/35 ^a

حروف یکسان بالای اعداد نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین آنهاست.

جدول 2- آنالیز رنگ پروتئین‌های آبکافتی

شاخص‌های رنگی	پروتئین آبکافتی با پروتامکس	پروتئین آبکافتی با نئوتراز
شاخص روشنایی (L*)	73/69 ± 0/06 ^a	68/70 ± 1/11 ^b
شاخص قرمزی (a*)	2/68 ± 0/77 ^a	3/95 ± 0/89 ^a
شاخص زردی (b*)	29/81 ± 2/71 ^a	26/84 ± 1/75 ^a
شاخص سفیدی (w*)	60/17 ± 2/07 ^a	58/57 ± 1/67 ^a

حروف یکسان بالای اعداد نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر سطر است.

جدول 3- درجه آبکافت، میانگین طول زنجیره پیتیدی و بازیابی پروتئین

آنزیم	درجه آبکافت (%)	میانگین طول زنجیره پیتیدی	بازیابی پروتئین (%)
پروتامکس	34/76 ± 2/92 ^a	2/88 ± 0/23 ^a	68/16 ± 1/98 ^a
نئوتراز	27/41 ± 2/63 ^b	3/66 ± 0/35 ^b	55/26 ± 2/77 ^b

حروف متفاوت بالای داده‌ها نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین آنهاست.

جدول 4- پروفیل اسیدچرب روغن اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

ردیف	مقدار (%)	نام اسید چرب	شماره پیوند دوگانه	پروفیل اسید چرب
1	5/93	Myristic acid		C 14 : 0
2	0/98	Myristoleic acid	n-5	C 14 : 1
3	16/49	Palmitic acid		C 16 : 0
4	5/04	Palmitoleic acid	n-7	C 16 : 1
5	8/16	Stearic acid		C 18 : 0
6	9/68	Oleic acid	n-9	C 18 : 1
7	8/14	Vaccenic acid	n-7	C 18 : 1
8	2/01	Linoleic acid	n-6	C 18 : 2
9	3/03	α -Linolenic acid	n-3	C 18 : 3
10	0/12	Arachidic acid		C 20 : 0
11	9/28	Eicosenoic acid	n-9	C 20 : 1
12	0/98	Eicosadienoic acid	n-6	C 20 : 2
13	4/87	Eicosatrienoic acid	n-3	C 20 : 3
14	3/23	Arachidonic acid	n-6	C 20 : 4
15	9/08	Eicosapentaenoic acid	n-3	C 20 : 5 (EPA)
16	0/6	Behenic acid		C 22 : 0
17	0/88	Erucic acid	n-9	C 22 : 1
18	11/29	Docosahexaenoic acid	n-3	C 22 : 6 (DHA)
19	0/1	Lignoceric acid		C 24 : 0
20	0/11	Other		Other

جدول 5- میزان حالیت پروتئین‌های آبکافتی در pHهای مختلف

pH	حالیت پروتئین آبکافتی با پروتامکس (%)	حالیت پروتئین آبکافتی با نئوتراز (%)
2	96/67 ± 3/16 ^{Abc}	94/31 ± 2/81 ^{Aef}
4	91/26 ± 3/2 ^{Ba}	84/65 ± 1/84 ^{Cd}
6	99/37 ± 0/89 ^{Dc}	97/17 ± 1/46 ^{Df}
8	93/67 ± 1/63 ^{Eab}	93 ± 1/76 ^{Ee}
10	99/01 ± 0/38 ^{Fc}	95/32 ± 2/69 ^{Fef}
12	96/43 ± 3/49 ^{Gbc}	94/04 ± 0/22 ^{Gef}

حروف بزرگ یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر سطر است (اثر آنزیم).

حروف کوچک یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر ستون است (اثر pH).

همانطور که در جدول 6 مشاهده می‌شود، در تمام pHهای مورد بررسی به غیر از pH=4، پروتئین آبکافتی با پروتامکس به‌طور معناداری شاخص فعالیت کف‌زایی بیشتری نسبت به پروتئین آبکافتی حاصل از فعالیت نئوتراز دارد (p<0.05). ضمن اینکه هر دو پروتئین

شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف پروتئین‌های آبکافتی در پژوهش حاضر هر دو پروتئین آبکافتی در مقایسه با سایر پژوهش‌ها (Klompong *et al.*, 2007; Elavarasan *et al.*, 2014)، شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف مناسبی ارائه کردند.

قدرت کف‌زایی بالاست که بتواند سریع‌تر به سطح مشترک آب و هوا مهاجرت کند و در نتیجه کاهش کشش سطحی، ساختارش از حالت پیچ و تاب خارج (باز) و مجدداً بازآرایی شود. در روند جذب (مهاجرت) پروتئین به سطح مشترک آب- هوا، عواملی مانند اندازه، ساختار و گروه‌های آبگریز مولکول پروتئینی، منبع پروتئین و روش آبکافت دخیل هستند (Taheri *et al.*, 2012, Martin *et al.*, 2002).

بیشترین کف را در pH=6 و کمترین مقدار آن را در pH=4 تولید کردند. علت کاهش این شاخص در pH=4، کمتر بودن حلالیت پروتئین در این pH (ایزوالکتریک) نسبت به سایر pHهاست (Pearson, 1983). تشکیل کف تحت تأثیر عواملی مانند انتقال، نفوذ و سازمان‌دهی مجدد مولکول‌ها در سطح مشترک هوا و آب قرار دارد (Halling, 1981 ; Wilde & Clark, 1996). پروتئینی دارای

جدول 6- شاخص فعالیت کف‌زایی پروتئین‌های آبکافتی در pHهای مختلف

pH	شاخص کف زایی پروتئین آبکافتی با پروتامکس (%)	شاخص کف زایی پروتئین آبکافتی با نوتراز (%)
2	143/86 ± 8/42 ^{Ad}	129/46 ± 6/98 ^{Bi}
4	19/60 ± 2/88 ^{Ca}	44/53 ± 5/25 ^{Df}
6	200/13 ± 9/31 ^{Ec}	159/87 ± 6/24 ^{Fj}
8	118/93 ± 3/44 ^{Gb}	95/73 ± 5/82 ^{Hh}
10	141/2 ± 5/41 ^{Id}	83/06 ± 1/77 ^{Jg}
12	126/8 ± 2/62 ^{Kc}	81/46 ± 4/02 ^{L-g}

حروف بزرگ یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر سطر است (اثر آنزیم).

حروف کوچک یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر ستون است (اثر pH).

این دو شاخص معرفی کرد چرا که این پروتئین تا حدود 130 درصد قدرت کف‌زایی داشت و بعد از نیم ساعت توانست تا بالای 90 درصد آن را حفظ کند (Elavarasan *et al.*, 2014).

ظرفیت نگهداری آب پروتئین‌های آبکافتی

ظرفیت نگهداری آب پروتئین آبکافتی با پروتامکس (4/77±0/48 میلی‌لیتر در گرم پروتئین) اندکی از پروتئین آبکافتی با نوتراز (4/46±0/1 میلی‌لیتر در گرم پروتئین) بیشتر بود (شکل 1) اما اختلاف معنی‌داری از این نظر بین دو پروتئین وجود نداشت (p>0.05). از جمله عوامل تأثیرگذار در این ظرفیت می‌توان به تعداد و نسبت گروه‌های قطبی و غیرقطبی (آمینواسیدهای آبدوست و آبگریز) و ترکیب (پروفیل) آمینواسید پروتئین‌های آبکافتی که با هر آنزیم تولید شده‌اند، اشاره کرد. به گونه‌ای که هرچه تعداد (غلظت) گروه‌های قطبی مانند COOH (کربوکسیل) و NH₂ (آمین) در یک پروتئین بیشتر باشد، آن پروتئین قابلیت نگهداری مقدار بیشتری از آب را داراست (Kristinsson & Rasco, 2000). همچنین وجود دو اسیدآمین گلوتامیک اسید³ و آسپارتیک اسید⁴ در یک پروتئین آبکافتی، آبکافتی، به جذب و نگهداری آب بیشتری کمک می‌کند (Deeslie & Cheryan, 1988). دو پروتئین آبکافتی که از سوبسترای فیله ماهی (با نام علمی) *Prionotus punctatus* با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز و فلاورزایم تولید شدند، به ترتیب ظرفیت نگهداری آب 2/4 و

شاخص بعدی در این زمینه، پایداری کف است. مطابق با جدول 7، پایداری کف پروتئین آبکافتی با پروتامکس در تمام pHها به غیر از pH=4 و pH=8 به‌طور معناداری (p<0.05) بیشتر از پروتئین آبکافتی با نوتراز است. لازم به ذکر است که هر دو پروتئین در pH=4 و pH=6 به ترتیب بیشترین و کمترین پایداری کف را ارائه کردند (جدول 7). شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف پروتئین آبکافتی حاصل از اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با آنزیم آلکالاز در pHهای 2 تا 10 به ترتیب از حدود 80 تا 250 و 30 تا 100 درصد متغیر بود. ضمن اینکه بیشترین مقدار این شاخص‌ها به pH=6 و کمترین آنها به pH=4 تعلق داشت (Taheri *et al.*, 2012). یکی از مواردی که در پایداری کف موثر است، ترکیب آمینواسیدی پروتئین آبکافتی است. وجود دو آمینواسید هیدروکسی‌پرولین¹ و هیدروکسی‌لایزین² در پروتئین‌های آبکافتی موجب افزایش شمار پیوندهای هیدروژنی و متعاقب تراکم بار پروتئین می‌شود. به این طریق این دو آمینواسید کف را پایدار می‌کنند (Giménez *et al.*, 2009). بنابراین در پروتئین آبکافتی که غلظت این دو اسیدآمین بالاست، پایداری کف مطلوبی انتظار می‌رود. پژوهشی که شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری آن را در پروتئین‌های آبکافتی تهیه‌شده از بافت ماهی کپور آب شیرین (*Catla catla*) به‌وسیله چهار آنزیم آلکالاز، بروملاین، پروتامکس و فلاورزایم مورد ارزیابی قرار داد، پروتئین آبکافتی با فلاورزایم را به‌عنوان مناسب‌ترین پروتئین از نظر

3 Glutamic acid
4 Aspartic acid

1 Hydroxyproline
2 Hydroxylysine

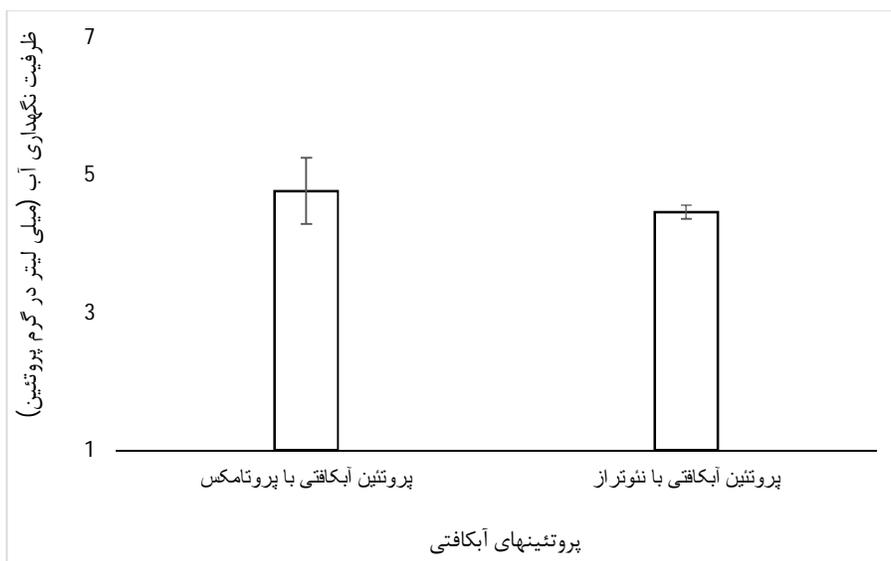
سالمون را به نسبت 1/5 درصد به گوشت همین ماهی اضافه کرد. بعد از 48 ساعت دوره انجماد و سپس انجمادزایی، میزان آبچک نسبت به تیمار شاهد 2 درصد کمتر بود. علت این امر توانایی بالای پروتئین‌های آبکافتی در نگهداری آب فراورده‌های پروتئینی است.

3/7 گرم برگرم پروتئین را ارائه کردند (Dos Santos *et al.*, 2011). پروتئین‌های آبکافتی تولیدشده در پژوهش حاضر نسبت به پروتئین‌های پژوهش مذکور، توانایی نگهداری میلی‌لیتر آب بیشتری داشتند. Kristinsson (1998) پروتئین آبکافتی تولید شده از ماهی

جدول 7- شاخص پایداری کف پروتئین‌های آبکافتی

pH	پایداری کف پروتئین آبکافتی با پروتامکس (%)	پایداری کف پروتئین آبکافتی با نئوتراز (%)
2	102 ± 3/6 ^{Ae}	87/06 ± 4/63 ^{Bk}
4	10/53 ± 1/28 ^{Ca}	16/13 ± 1/92 ^{Dg}
6	135/6 ± 5/64 ^{Ef}	110/21 ± 3/94 ^{Fi}
8	65/46 ± 1/8 ^{Gb}	64/91 ± 4/33 ^{Gi}
10	92/29 ± 4/57 ^{Hd}	57/68 ± 1/83 ^{Ii}
12	74/93 ± 1/51 ^{Jc}	39/41 ± 2/54 ^{Kh}

حروف بزرگ یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر سطر است (اثر آنزیم).
حروف کوچک یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر ستون است (اثر pH).



شکل 1- ظرفیت نگهداری آب در دو پروتئین آبکافتی

مطابق جدول 8 پروتئین آبکافتی با پروتامکس به‌طور معناداری قدرت مهار رادیکال DPPH (73/11±1/34%) بیشتری نسبت به پروتئین آبکافتی با نئوتراز (61/43±3/43%) ارائه کرد (p<0.05). ضمن اینکه هر دو پروتئین آبکافتی نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک از نظر این شاخص ضعیف‌تر عمل کردند (p<0.05). قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین‌های آبکافتی مشتق شده از بافت ماهی کپور آب شیرین (*Catla catla*) که با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز، فلاورزایم، پروتامکس و بروملاین تولید شده بودند، به ترتیب 77/92± 0/59 و 67/9± 0/42، 70/45± 0/35، 64/65± 1/48

قدرت مهار رادیکال آزاد 2 و 2 دیفنیل -1- پیکریل هیدرازیل (DPPH) پروتئین‌های آبکافتی

یکی از شاخص‌های مهم جهت سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌ها، قدرت آن‌ها برای مهار (خنثی کردن) رادیکال آزاد 2 و 2 دیفنیل -1- پیکریل هیدرازیل (DPPH) است. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار و محلول در اتانول است که بیشترین جذب را در طول موج 517 نانومتر دارد. وقتی این رادیکال با مواد الکترون‌دهنده مانند آنتی‌اکسیدان‌ها (در اینجا، پروتئین آبکافتی) مواجه می‌شود، مهار شده و جذبش کاهش می‌یابد (Shimada *et al.*, 1992).

درصد گزارش شد (Elavarasan et al., 2014).

جدول 8- قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین‌های آبکافتی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک

پروتئین‌های آبکافتی	قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH (%)
پروتئین آبکافتی با پروتامکس	73/11 ± 1/34 ^b
پروتئین آبکافتی با نئوتراز	61/43 ± 3/43 ^a
BHA	92/39 ± 1/42 ^d
BHT	87/38 ± 0/96 ^c

حروف متفاوت بالای داده‌ها نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین آنهاست.

قدرت کاهندگی پروتئین‌های آبکافتی

salar) با آنزیم تریپسین در سه درجه آبکافت مورد مطالعه قرار گرفت. قدرت کاهندگی پروتئین با درجه آبکافت 61/73 ± 0/55 درصد، جذب 0/42 ± 0/00 در طول موج 700 نانومتر گزارش شد (بخشان و همکاران، 1393). همچنین قدرت کاهندگی پروتئین‌های آبکافتی تهیه‌شده از بافت ماهی کپور آب شیرین (*Catla catla*) با استفاده از آنزیم بروملاین معادل جذب 0/885 ± 0/06 در طول موج 700 نانومتر بود (Elavarasan et al., 2014) که در مقایسه با دو پروتئین تولیدشده در پژوهش حاضر رقم بالاتری است.

توانایی پروتئین‌های آبکافتی برای کاهش یون فریک (Fe^{3+}) به یون فرو (Fe^{2+}) شاخص دیگری جهت سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی است. مطابق جدول 9 پروتئین آبکافتی با نئوتراز قدرت کاهندگی بیشتری ($p < 0.05$) نسبت به پروتئین آبکافتی حاصل از عمل پروتامکس نشان داد و توانست جذب 0/631 ± 0/016 را در طول موج 700 نانومتر به خود اختصاص دهد. در پژوهشی که خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی حاصل از ضایعات فرایند فیله کردن ماهی آزاد (*Salmo*

جدول 9- قدرت کاهندگی پروتئین‌های آبکافتی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک

پروتئین‌های آبکافتی	قدرت کاهندگی یون فریک (جذب در طول موج 700 نانومتر)
پروتئین آبکافتی با پروتامکس	0/583 ± 0/024 ^a
پروتئین آبکافتی با نئوتراز	0/631 ± 0/016 ^b
BHA	0/973 ± 0/021 ^d
BHT	0/907 ± 0/019 ^c

حروف متفاوت بالای داده‌ها نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین آنهاست.

فعالیت چلاته کردن فلزات پروتئین‌های آبکافتی

معنی‌داری بین دو پروتئین از این نظر وجود ندارد ($p > 0.05$). پروتئین آبکافتی مشتق‌شده از ماهی تراولی نوار زرد (*Selaroides leptolepis*) با استفاده از آکالاز (درجه آبکافت 15%) در غلظتی برابر با غلظت مورد بررسی در پژوهش جاری، فعالیت کلاته‌کنندگی تقریباً معادل با پروتئین‌های تولیدشده در پژوهش حاضر ارائه کرد (Klompong et al., 2007).

یکی دیگر از شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی که در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفت، فعالیت چلاته‌کردن فلزات است. همانطور که در جدول 10 مشاهده می‌شود، این شاخص در پروتئین آبکافتی با نئوتراز (69/44 ± 5/49%) کمی بیشتر از پروتئین آبکافتی با پروتامکس (62/99 ± 4/26%) است اما اختلاف

جدول 10- فعالیت چلاته کردن پروتئین‌های آبکافتی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی

پروتئین‌های آبکافتی	فعالیت چلاته کردن فلزات (%)
پروتئین آبکافتی با پروتامکس	62/99 ± 4/26 ^a
پروتئین آبکافتی با نئوتراز	69/44 ± 5/49 ^a
BHA	96/02 ± 3/12 ^b
BHT	94/54 ± 1/06 ^b

حروف یکسان بالای داده‌ها نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین آنهاست.

نتیجه‌گیری

ماکرومولکول است. همچنین با توجه به خواص مطلوب این پروتئین‌ها، می‌توان از این محصول در فرمولاسیون مواد غذایی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و جزء عملکردی استفاده کرد.

از تحقیق حاضر چنین بر می‌آید که اندرونه ماهی منبع غنی از پروتئین بوده و تکنیک آبکافت آنزیمی یک روش موثر برای استخراج و بهبود خواص عملکردی و آنتی‌اکسیدانی این

منابع

- اویسی پور م.، قمی م. ر. 1387. بیوتکنولوژی در تولید فرآورده‌های دریایی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن. 104-
- اویسی پور م.، عابدیان کناری ع.، معتمدزادگان ع.، نظری ر. 1389. بررسی خواص پروتئین‌های هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی تون زردباله (*Thunnus albacares*) با استفاده از آنزیم‌های تجاری. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد 6، شماره 1، 68-76
- بخشان ع.، علیزاده دوغیکلایی ا.، طاهری ع. 1393. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی بدست آمده از ضایعات، در فرایند فیله کردن ماهی آزاد (*Salmo salar*). پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، سال یازدهم، شماره 1، 1143-1152
- فاطمی ح.، 1378، شیمی مواد غذایی، شرکت سهامی انتشار. چاپ نهم، 82-78
- ملاحمدی ن.، فرهوش ر.، شریف ع. 1393. بررسی ساختار اسید چرب روغن ماهی کیلکا. همایش ملی علوم و فناوریهای نوین در صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تربت حیدریه، یازدهم دیماه 1393.
- Adler-Nissen, J. & Olsen, H. 1979. The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. In *Food Chemistry (A. Pour-El, ed.) American Chemical Society, Washington, DC.*
- AOAC, W. H. (2005). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. *Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.*
- Bueno-Solano, C., López-Cervantes, J., Campas-Baypoli, O. N., Lauterio-García, R., Adan-Bante, N. P., & Sánchez-Machado, D. I. (2009). Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. *Food chemistry*, 112(3), 671-675.
- Chobert, J. M., Bertrand-Harb, C., & Nicolas, M. G. (1988). Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymically by trypsin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(5), 883-892.
- Chiang, W. D., Shih, C. J., & Chu, Y. H. (1999). Functional properties of soy protein hydrolysate produced from a continuous membrane reactor system. *Food Chemistry*, 65(2), 189-194.
- Deeslie, W. D., & Cheryan, M. (1988). Functional properties of soy protein hydrolysates from a continuous ultrafiltration reactor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(1), 26-31.
- Decker, E. A., & Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(3), 674-677.
- Dos Santos, S. D. A., Martins, V. G., Salas-Mellado, M., & Prentice, C. (2011). Evaluation of functional properties in protein hydrolysates from bluewing searobin (*Prionotus punctatus*) obtained with different microbial enzymes. *Food and bioprocess technology*, 4(8), 1399-1406.
- Elavarasan, K., Naveen Kumar, V., & Shamasundar, B. A. (2014). Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 1207-1214.
- 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.
- Gbogouri, G. A., Linder, M., Fanni, J., & Parmentier, M. (2004). Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. *Journal of food science*, 69(8), C615-C622.
- Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, M. P. (2009). Physico-chemical and film forming properties of giant squid (*Dosidicus gigas*) gelatin. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 585-592.
- Halling, P. J. (1981). Protein stabilized foams and emulsions. *CRC Critical Reviews in Food Science*, 12, 155-203.
- Hoyle, N. T., & Merritt, J. O. H. N. (1994). Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 59(1), 76-79.
- Kunte, L. A., Gennadios, A., Cuppett, S. L., Hanna, M. A., & Weller, C. L. (1997). Cast films from soy protein isolates and fractions 1. *Cereal Chemistry*, 74(2), 115-118.
- Kristinsson, H. G. (1998). Reaction kinetics, biochemical and functional properties of salmon muscle proteins hydrolyzed by different alkaline proteases.
- Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(1), 43-81.

- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food chemistry*, 102(4), 1317-1327.
- Layne, E. (1957). [73] Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. *Methods in enzymology*, 3, 447-454.
- Linder, M., Fanni, J., & Parmentier, M. (1996). Functional properties of veal bone hydrolysates. *Journal of Food Science*, 61(4), 712-716.
- Martin, A. H., Grolle, K., Bos, M. A., Stuart, M. A. C., & van Vliet, T. (2002). Network forming properties of various proteins adsorbed at the air/water interface in relation to foam stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 254(1), 175-183.
- Nalinanon, S., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2010). Biochemical properties of pepsinogen and pepsin from the stomach of albacore tuna (*Thunnus alalunga*). *Food Chemistry*, 121(1), 49-55.
- Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H., & Shahidi, F. (2011). Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. *Food Chemistry*, 124(4), 1354-1362.
- Oyaiza, M. (1986). Studies on products of browning reaction: Antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Journal of nutrition*, 44, 307-315.
- Onodenaloro, A. C., & Shahidi, F. (1996). Protein dispersions and hydrolysates from shark (*Isurus oxyrinchus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 5(4), 43-59.
- Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., & Shahiri, H. (2009). The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry*, 115(1), 238-242.
- Ovissipour, M., Benjakul, S., Safari, R., & Motamedzadegan, A. (2010). Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna *Thunnus albacares* head using alcalase and protamex. *International Aquatic Research*, 2, 87-95.
- Pearson, A. M. (1983). Soy proteins. In B. J. F. Hudson (Ed.), *Developments in food proteins-2*(pp. 67-108). Essex, England: Applied Science Publishers
- Pak, C. S. 2005. Stability and quality of fish oil during typical domestic application. Final Project. Wonsan University of fisheries Kangwon Province, DPR of Korea.
- Pacheco-Aguilar, R., Mazonra-Manzano, M. A., & Ramírez-Suárez, J. C. (2008). Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. *Food Chemistry*, 109(4), 782-789.
- Robinson, H. W., & Hogden, C. G. (1940). The biuret reaction in the determination of serum proteins. 1. A study of the conditions necessary for the production of a stable color which bears a quantitative relationship to the protein concentration. *Journal of Biological Chemistry*, 135, 707-725.
- Ruxton, C. H. S., Reed, S. C., Simpson, M. J. A., & Millington, K. J. (2004). The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 17(5), 449-459.
- Rodríguez-Ambríz, S. L., Martínez-Ayala, A. L., Millán, F., & Davila-Ortiz, G. (2005). Composition and functional properties of Lupinus campestris protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60(3), 99-107.
- Ren, J., Wang, H., Zhao, M., Cui, C., & Hu, X. (2010). Enzymatic hydrolysis of grass carp myofibrillar protein and antioxidant properties of hydrolysates. *Czech Journal of Food Science*. Vol, 28(6), 475-484.
- Spinelli, J., Koury, B., & Miller, R. (1972). Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates enzymic modifications of myofibrillar fish proteins. *Journal of Food Science*, 37(4), 604-608.
- Sathe, S. K., & Salunkhe, D. K. (1981). Functional properties of the Great Northern bean (*Phaseolus vulgaris L.*) proteins: Emulsion, foaming, viscosity, and gelation properties. *Journal of Food Science*, 46(1), 71-81.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of agricultural and food chemistry*, 40(6), 945-948.
- Shahidi, F., Han, X. Q., & Synowiecki, J. (1995). Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food chemistry*, 53(3), 285-293.
- Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. (2007). Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. *Food Technology and Biotechnology*, 45(2), 187.
- Safari, R., Motamedzadegan, A., Ovissipour, M., Regenstein, J. M., Gildberg, A., & Rasco, B. (2012). Use of hydrolysates from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1), 73-79.
- Thanonkaew, A., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2006). Chemical composition and thermal property of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) muscle. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2), 127-133.
- Taheri, A., Anvar, S. A. A., Ahari, H., & Fogliano, V. (2012). Comparison the functional properties of protein Hydrolysates from poultry byproducts and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) viscera. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(1), 154-169.
- Venugopal, V., & Shahidi, F. (1994). Thermostable water dispersions of myofibrillar proteins from Atlantic mackerel

- (*Scomber scombrus*). *Journal of food science*, 59(2), 265-268.
- Wilding, P., Lillford, P. J., & Regenstein, J. M. (1984). Functional properties of proteins in foods. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Biotechnology*, 34(3), 182-189.
- Wilde, P. J., & Clark, D. C. (1996). The competitive displacement of β -lactoglobulin by Tween 20 from oil-water and air-water interfaces. *Journal of colloid and interface science*, 155(1), 48-54.
- Wasswa, J., Tang, J., Gu, 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(4), 1698-1704.
- Yen, G. C., & Wu, J. Y. (1999). Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*, 65(3), 375-37.

Evaluation of oil fatty acid profile, functional properties and antioxidants activity of hydrolyzate produced from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera by application of protamex and neutrase enzymes

S. Reyhani Poul¹, S. A. Jafarpour^{2*}, R. Safari³

Received: 2016.02.09

Accepted: 2016.11.05

Introduction: With the growing population and following the efforts of food production industries, more waste is produced which can be recovered by adding value and brought them back into the cycle of production and consumption. The reason behind is firstly the reduction of waste and secondly the economic importance of value added resultant products. Aquaculture sector produces large volume of wastes including the head, tail, fins, spine, and most importantly their viscera. If the waste managed properly, valuable materials such as hydrolyzed protein powder (the resulting waste hydrolysis using proteases enzymes) and fish oil (byproduct of enzymatic hydrolysis) can be produced. In this study rainbow trout waste was chosen, due to its large volume production in the country. The functional properties and antioxidant activity of hydrolysates as well as the oil fatty acid profile are the main factors to be considered. This study was aimed to investigate the hydrolysis of rainbow trout viscera (*oncorhynchus mykiss*) by protamex and neutrase enzymes individually and compare the functional properties and antioxidants activity of protein hydrolysate as well as analyze the fatty acid profile of fish oil obtained as by-product of enzymatic hydrolysis process.

Materials and methods: Rainbow trout viscera (*Oncorhynchus mykiss*) were obtained from the fish market in Sari and transported in ice containers to the laboratory. Protamex and neutrase enzymes were purchased from Novozymes Company and protein hydrolysates prepared enzymatically according to the method of Guerard et al. (2002). Proximate analysis was carried out according to the procedures outlined by the AOAC (1995). Degree of hydrolysis determined as described by Hoyle and Merritt (1994). Peptide chain length (PCL) was measured using the method of Adler-Nissen and Olsen (1979). Protein recovery (PR) determined using the method used by Ovissipour et al (2009). Protein solubility for hydrolysates was determined using the method of Robinson and Hodgen (1940). Foam stability index was measured according to the method described by Sathe and Salunkhe (1981). Water holding capacity (WHC) was determined using the method of Rodriguez-Ambriz et al. (2005). DPPH radical-scavenging activity was measured using the method of Yen and Wu (1999). Reducing power was determined by the method of Oyaiza (1986). The chelating activity on Fe^{2+} was determined, using the method of Decker and Welch (1990).

Results & Discussion: Protamex leads to the production of protein powder with higher degree of hydrolysis ($34.76 \pm 2.92\%$) and protein recovery ($68/16 \pm 1.98\%$) compared to neutrase ($p < 0.05$). The color of two types of hydrolysates was not significantly different ($p > 0.05$) despite the difference in L^* value. The viscera oil contains 34% monounsaturated, 34.49% polyunsaturated and 31.4% saturated fatty acid. Apart from pH 4 (isoelectric point), the solubility of both protein powders in water was remarkable (more than 90%). The foam activity and stability index of hydrolyzate produced by protamex were more desirable than hydrolyzate produced by neutrase, whereas at pH 6, these indices reached to their maximum values of $200.13 \pm 9.31\%$ and $135.6 \pm 5.64\%$, respectively. Furthermore, water holding capacity of both hydrolysates was measured as approximately 4.5 ml/g protein ($p > 0.05$). Protamex leads to the production of protein powder with the higher DPPH radical scavenging activity compared to hydrolyzate produced by neutrase. Conversely, the reducing power of hydrolyzate produced by neutrase was higher than that of protamex ($p < 0.05$). In terms of metal-chelating activity, there was no significant difference between the hydrolysates produced by neutrase ($69.44 \pm 5.49\%$) and protamex ($62.99 \pm$

1. M.Sc of fisheries processing products, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, P. O. Box : 578. Sari, Iran

2. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, P. O. Box : 578. Sari, Iran.

3. Instructor, Faculty Member of Caspian Aquatic Institute, Sari, Mazandaran, Iran.

(*Corresponding Author Email: a.jafarpour@gmail.com)

4.26%) ($p>0.05$).

Key words: Enzymatic hydrolysis, Rainbow trout, Viscera oil, Functional properties and antioxidant activity

ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ترکیبات زیست فعال میوه خرما (*Phoenix dactylifera*)

دو رقم «پیارم» و «زاهدی»

سعیده زربخش¹ - سمیه رستگار^{2*}

تاریخ دریافت: 1395/08/19

تاریخ پذیرش: 1396/03/20

چکیده

خرما به‌عنوان یک محصول عمده کشاورزی ایران دارای ارزش غذایی بالایی می‌باشد. در این پژوهش، برخی خصوصیات فیزیکی و ترکیبات شیمیایی دو رقم خرما پیارم و زاهدی پرورش یافته در دو منطقه حاجی‌آباد و جهرم مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به‌دست آمده بیشترین طول میوه (43/6 mm)، وزن گوشت (9/3 g) و خاصیت آنتی‌اکسیدانی (57 mgFW) مربوط به پیارم در منطقه حاجی‌آباد و بیشترین میزان فنل (20/7 mg/gFW)، مواد جامد محلول (77/3%) و اسید قابل تیتر (0/023%) به رقم زاهدی حاجی‌آباد تعلق داشت. گرچه ارقام خرما جهرم در شاخص رنگ و میزان تانن نتایج بهتری از ارقام خرما حاجی‌آباد نشان دادند. در مقایسه بین دو رقم، رقم پیارم در صفات وزن میوه (28/3 g)، درصد رطوبت، میزان پروتئین (7%) و فلاونوئید (22/2 mg CEQ/gFW) نسبت به رقم زاهدی برتری داشت. در حالیکه، رقم زاهدی دارای کربوهیدرات (85%) بالاتری بود. بنابراین در تعیین ارزش غذایی و ترکیبات مختلف میوه خرما علاوه بر رقم، مکان و شرایط آب و هوایی منطقه نقش موثری خواهند داشت.

واژه‌های کلیدی: پروتئین، فنل، فلاونوئید، کربوهیدرات، خرما

مقدمه

نهایی رشد، ارقام خرما به سه دسته مختلف شامل خشک، نیمه‌خشک و نرم تقسیم بندی می‌شوند. ارقام خرما نرم بیش از 30%، ارقام خرما نیمه‌خشک 20-30% و ارقام خرما خشک کمتر از 20% رطوبت دارند. خرما با توجه به ارزش غذایی و دارویی بالا، جایگاه ویژه‌ای در رژیم غذایی میلیون‌ها انسان بخصوص در خاورمیانه، آفریقا و مناطق دیگر دنیا دارد (Vayalil, 2012). بر اساس گزارشات مختلف میوه خرما به‌عنوان منبع غنی از کربوهیدرات (70-80 درصد) و عناصر معدنی و ویتامین‌ها (Al Shahib and Marshall, 2003) می‌باشد. میوه خرما یکی از با ارزش‌ترین مواد غذایی است که بخش اعظم (تقریباً 70 درصد) آن را قند تشکیل می‌دهد. اگرچه میزان ویتامین‌های آن چندان قابل ملاحظه نیست، اما خاکستر آن دارای 50 درصد پتاسیم، 8 درصد فسفر و 5 درصد کلسیم است. بنابراین می‌تواند یکی از منابع مهم ترکیبات معدنی در یک رژیم غذایی متعادل باشد. علاوه بر مصرف مستقیم میوه، فراورده‌های صنعتی متنوعی نیز از این محصول استخراج می‌گردد که شیر، خرما، عسل خرما، قند مایع، سرکه خرما، الکل، کارامل، خمیر خرما و شکلات خرما از آن جمله هستند. میوه خرما به دلیل کیفیت تغذیه‌ای منحصربه‌فرد مثل قند بالا، ویتامین‌ها و مواد معدنی و انرژی زیادی که بسیار قابل توجه و مناسب است. عمده‌ترین ترکیب خرما را کربوهیدرات‌ها تشکیل می‌دهد که بین 8/94 - 8/69 درصد متغیر است. دیگر

نخل خرما (*Phoenix dactylifera*) گیاهی تک‌لپه و دوپایه از خانواده Arecaeae می‌باشد. میوه خرما یکی از محصولات عمده کشاورزی در منطقه شرق آسیا است، که حدود 90% از تولید خرما جهان را دارا می‌باشند (Ahmed, 1999). ایران به‌عنوان یکی از بزرگ‌ترین تولیدکننده‌های خرما با تولید حدود 888/000 تن، دومین رتبه تولیدکننده اصلی پس از مصر (حدود 15% از تولید کل جهان) را دارا می‌باشد (FAO, 2012). میوه خرما یکی از مهم‌ترین و قدیمی‌ترین محصولات ایران است که سهم قابل توجهی در سبد غذایی مردم دارد. در ایران حدود 400 رقم خرما گزارش شده است (Mireei et al., 2010). یکی از مرغوب‌ترین انواع خرما صادراتی کشور، خرما پیارم است که به دلیل کیفیت مناسب و بازاریابی بازار صادراتی مناسبی در جهان دارد. خرما زاهدی از ارقام بسیار مرغوب صادراتی است و دارای خاصیت انبارمانی خوب و حمل و نقل آن بسیار آسان است. براساس میزان رطوبت میوه خرما در مرحله

1 و 2- به ترتیب دانشجوی کارشناسی‌ارشد و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

* - نویسنده مسئول: (Email: srastegar2008@gmail.com)
DOI: 10.22067/iftstr.v14i1.60214

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در 3 تکرار انجام شد. میوه‌های مورد نیاز جهت آزمایش در مرحله تمار (آخرین مرحله رشد فیزیولوژیک خرما) از درختان دو رقم خرمای خشک و نیمه‌خشک زاهدی و پیارم از دو منطقه واقع در باغستان حاجی‌آباد - هرمزگان با مشخصات جغرافیایی 33 درجه و 37 دقیقه عرض شمالی و 59 درجه و 58 دقیقه طول شرقی و کلکسیون نخل مؤسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری واقع در شهرستان جهرم با مشخصات جغرافیایی 28 درجه و 57 دقیقه شمالی و 53 درجه و 57 دقیقه شرقی به صورت دست‌چین تهیه شدند.

اندازه‌گیری پارامترهای مورفولوژیکی

تعداد 30 میوه جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورفولوژیکی استفاده شد. طول و قطر میوه (mm)، نسبت طول به قطر میوه، طول و قطر هسته (mm)، نسبت طول به قطر هسته، وزن میوه، گوشت و هسته (g)، نسبت وزن گوشت به وزن هسته، برای کلیه اندازه‌گیری‌ها از ترازوی با دقت 0/0001 گرم و کولیس‌ورنیه با دقت 0/01 میلی‌متر استفاده شد) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پارامترهای فیزیکی شیمیایی

رنگ میوه با استفاده از رنگ‌سنج مینولتا مدل (400, Japan - CR) بررسی گردید. 3 میوه به صورت تصادفی انتخاب گردید و قرائت‌ها از 3 نقطه مقابل هم در روی میوه انجام شد و شاخص‌های رنگ a^* (قرمز-سبز)، b^* (زرد-آبی) و l^* (سفید-سیاه) اندازه‌گیری شد. زاویه هیو، کروما (شدت رنگ) و درخشش میوه (I^*) محاسبه گردیدند (Pek et al., 2010).

رطوبت بافت میوه طبق روش (AOAC, 1990) اندازه‌گیری شد، مقدار 10 گرم از نمونه خرما بدون هسته، یکنواخت و همگن شده در دمای 105°C به مدت 18 ساعت خشک گردید.

مقدار 10 گرم از نمونه پودر شده را با آب مقطر به حجم 100 میلی‌لیتر رسانده شد و اسیدیته آن با استفاده از pH متر دیجیتالی -PL (500, Taiwan) محاسبه گردید (مستوفی و نجفی، 1384). برای اندازه‌گیری اسید قابل تیتراسیون از روش تیتراسیون با سود 0/1 نرمال استفاده شد و از روی میزان سود مصرفی مقدار اسید قابل تیتراسیون بر اساس اسیدمالیک محاسبه شد (مستوفی و نجفی، 1384).

برای اندازه‌گیری مواد جامد محلول، از رفرنومتر دستی دیجیتالی (ATCIE, ATAGO, Japan) استفاده شد و عدد حاصل به صورت (درجه بریکس) بیان شد (Khan et al., 2008). جهت اندازه‌گیری شاخص طعم یا کسر رسیدگی نسبت بین مواد جامد محلول کل به اسید قابل تیتراسیون بررسی شد (AOAC, 1994).

ترکیبات خرما شامل کارتنوئیدها، فلاونوئیدهای گلیکوزیدی از دسته فلاونها و فلاونولها (مثل کوئرستین لوتئین و آپی‌ژنین) می‌باشد. مواد فنولی در خرمای رسیده حدود 3 درصد وزن خشک را تشکیل می‌دهند و شامل چهار گروه اصلی تانن، فلاونها، فلاوانها و فلاونولها می‌باشند (Al Shahib and Marshall, 2003). موسوی و جنتی (1388) در بررسی خصوصیات ارقام خرمای استان خوزستان پروتئین خرما را $2/05-2/43\%$ گزارش کردند. Rastegar و همکاران (2012) ترکیبات مختلف میوه خرمای سه رقم شاهانی، پیارم و دیری را طی مراحل مختلف رشد مورد بررسی قرار دادند. ایشان اظهار داشتند که میوه خرما منبع غنی از عناصر معدنی می‌باشد که پتاسیم نسبت به بقیه عناصر در سطح بالاتری قرار می‌گیرد. گرچه ترکیباتی مانند عناصر معدنی و پروتئین همزمان با رشد و نمو میوه کاهش می‌یابد. رستگار و راحمی (1394) اظهار داشتند که رقم پیارم دارای اسیدهای آلی بالاتر نسبت به رقم شاهانی و دیری می‌باشد. درحالیکه شاهانی دارای قند بیشتر و دیری دارای ترکیبات فنلی بیشتری بوده است. کرمت و خورش (1381) در بررسی 12 رقم خرما در ایران نشان داد که شهادی بیشترین ($28/5\%$) و زاهدی ($11/3\%$) کمترین رطوبت را دارند. کباب بهبهان بیشترین ($2/9\%$) و رقم شهاد ($1/5\%$) کمترین میزان پروتئین را داشتند. Al-Shahib and Marshall (2003) گزارش کردند که میوه خرما شامل درصد بالاتری از پروتئین نسبت به دیگر میوه‌ها است. پروتئین خرما شامل 23 نوع اسیدآمین است که برخی از آن‌ها در میوه‌های محبوبی همچون سیب، پرتقال و موز وجود ندارد. برخی از اسیدآمین‌های ضروری خرمای نرم شامل: گلوتامیک اسید، آسپارتیک اسید، لیزین، لیوسین و گلیسین است. با این حال، خرماهای خشک شامل مقدار بیشتری از اسیدآمین‌های گلوتامیک اسید، آسپارتیک اسید، گلیسین، پرولین و لیوسین است (Al-Farsi, Mansouri, 2008) و همکاران (2005) عنوان کردند، محتوی فنل کل و آنتی‌اکسیدان میوه خرما الجزایر به ترتیب $0/08-0/22$ و $2/49-8/36$ mg GAL/100g FW بود. در گزارشی دیگر محتوی فنل کل و آنتی‌اکسیدان به ترتیب $162-246$ mg GAL/100g FW و 162 μmol Trolox/g FW مشاهده شد (Al-Farsi et al., 2007). با توجه به حجم بالای تولید این محصول استراتژیک و نقش مهم آن در سلامتی انسان، ضروری می‌باشد که ارزش غذایی و ترکیبات شیمیایی آن مورد بررسی قرار گیرد. با وجودی که ایران از نظر تولید خرما در جهان مقام دوم را دارد با این حال، هنوز اطلاعات جامعی از ترکیبات ارقام مهم در دست نمی‌باشد. همچنین مقایسه‌ای از ارقام یکسان در دو منطقه مختلف کشور موجود نمی‌باشد. لذا در این پژوهش برخی خصوصیات فیزیکی و ترکیبات مختلف ارقام پیارم و زاهدی پرورش یافته در دو منطقه حاجی‌آباد و جهرم که از ارقام مهم و صادراتی استان هرمزگان و فارس محسوب می‌شوند مورد توجه قرار گرفته است.

اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی

ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه‌ها، از طریق خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد 2 و 2 دی فنیل 1-پیکریل هیدرازیل (DPPH) تعیین گردید. از روش (Brand-Williams *et al.*, 1995)، برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی محلول حاصل در طول موج 517 نانومتر قرائت شد و به مدت 30 دقیقه در شرایط تاریکی نگهداری شد و مجدداً میزان جذب نوری آن در طول موج 517 نانومتر قرائت شد و از فرمول زیر مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی محاسبه گردید.

$$\text{درصد فعالیت آنتی اکسیدانی} = \frac{A_{t0} - A_{t30}}{A_{t0}} \times 100 \quad (1)$$

A_{t0} = قرائت اسپکت در زمان اول

A_{t30} = قرائت اسپکت پس از 30 دقیقه

سنجش پروتئین

مبنای این روش بر اساس اتصال رنگ کوماکسی بریانت بلو 250G موجود در معرف اسیدی به مولکول پروتئین است. محتوای پروتئین کل با اسپکتروفتومتری به روش (Bradford, 1976) با استفاده از سرم آلبومین گاوی BSA به‌عنوان منحنی استاندارد در طول موج 595 نانومتر اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده با استفاده از نرم افزار SAS 9,4 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال 1% انجام گردید. رسم نمودارها نیز توسط نرم افزار اکسل (Excel 2013) انجام گرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس اثرات متقابل رقم و مکان بر صفات مختلف طول میوه، طول هسته، وزن گوشت، مواد جامد محلول، اسیدیته، اسید قابل تیتراسیون، شاخص طعم، فنل و آنتی اکسیدان معنی‌دار شد. اثر ساده رقم بر صفات درصد رطوبت، کربوهیدرات و فلاونوئید در سطح 1% و در صفت پروتئین در سطح 5% معنی‌دار شد. همچنین اثر ساده مکان بر صفات طول/قطر میوه، وزن میوه، وزن هسته، شاخص درخشندگی، a^* ، b^* ، زاویه هیو، کروما، درصد رطوبت، پروتئین، فلاونوئید و تانن در سطح احتمال 1% معنی‌دار شد و در صفت قطر هسته در سطح 5% معنی‌دار شد.

بررسی خصوصیات فیزیکی

نتایج نشان داد، رقم پیارم، طول و وزن بیشتری نسبت به رقم زاهدی نشان داد درحالی‌که قطر میوه خرما میوه رقم زاهدی بیشتر از رقم پیارم بود (جدول 2). Orojloo (2016) در بررسی ارقام مختلف خرما ایران طول و قطر خرما پیارم را 41mm و 19/5 و طول و قطر میوه زاهدی را 33 mm و 22/6 بیان کردند. Rastegar و همکاران (2012) در بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی سه رقم خرما شاهانی، پیارم و دیری در ایران، طول میوه پیارم در مرحله آخر رشد میوه را 38mm و قطر میوه را 16/6mm گزارش کردند. Hussein و همکاران (1976) در پژوهش خود روی 18 رقم خرما عربستان سعودی، میوه‌هایی با وزن بیش از 15g گرم را به عنوان میوه‌های سنگین وزن طبقه‌بندی کردند. به‌طور کلی، شرایط آب و هوایی مکان رشد، ممکن است در ترکیبات و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خرما تأثیر بگذارد. حاصلخیزی خاک، یکی از پارامترهای مهمی است که تولید و خصوصیات کمی و کیفی میوه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. میوه‌های خرما بر طبق رقم و شرایط رشد، در

محتوای فنل کل

برای اندازه‌گیری میزان فنل کل میوه از معرف فولین سیوکالتیو استفاده شد. جذب مخلوط واکنش در طول موج 750 نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (England UV-3200 Model Cecil 2501) خوانده شد (Waterhouse, 2002). منحنی استاندارد با استفاده از استاندارد اسیدگالیک تهیه گردید.

اندازه گیری فلاونوئید

مقدار ترکیب‌های فلاونوئیدی با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم تعیین شد. جذب نمونه‌ها در طول موج 415 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. نتایج به‌صورت میلی گرم هم ارز کوئرستین بر گرم وزن تر گزارش شد (Chang *et al.*, 2002).

اندازه‌گیری تانن محلول

غلظت تانن محلول نمونه‌ها بر طبق روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد (Tiara, 1996). سپس میزان جذب نوری محلول فوق در طول موج 760 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. غلظت تانن محلول بر اساس منحنی استاندارد حاصل از اسیدتانیک، در غلظت‌های مختلف که همزمان با تهیه نمونه‌ها و مشابه آن‌ها آماده شده بود محاسبه شد.

اندازه‌گیری کربوهیدرات کل

برای اندازه‌گیری قند کل موجود در نمونه‌ها از روش فنل سولفوریک اسید استفاده شد. مقدار جذب نوری آن در طول موج 490 نانومتر اندازه‌گیری گردید. در این روش جهت تهیه منحنی استاندارد از محلول گلوکز در غلظت‌های مختلف استفاده گردید (بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر) (Dubois *et al.*, 1956).

اندازه، وزن و شکل با یکدیگر متفاوتند.

جدول 1- تجزیه واریانس خصوصیات فیزیکوشیمیایی ارقام خرما

میانگین مربعات							
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول میوه (mm)	طول/قطر میوه (mm)	طول هسته (mm)	قطر هسته (mm)	وزن میوه (g)	وزن گوشت (g)
رقم (V)	1	18/30*	0/001 ^{ns}	0/058 ^{ns}	1/84 ^{ns}	58/21 ^{ns}	0/005 ^{ns}
مکان (C)	1	300/20**	0/89**	134/40**	5/20*	141/38**	4/97**
V×C	1	20/96*	0/015 ^{ns}	8/60*	1/26 ^{ns}	5/32 ^{ns}	6/17**
خطا	8	4/16	0/04	1/22	0/63	1/83	0/004
ضریب تغییرات (%)		5/64	10/74	4/83	9/90	5/17	6/29

ادامه جدول 1- تجزیه واریانس خصوصیات فیزیکوشیمیایی ارقام خرما

منابع تغییرات	درجه آزادی	L*	a*	b*	زاویه هیو	کروما	pH	رطوبت (%)	مواد جامد محلول (%)
رقم (V)	1	0/002 ^{ns}	0/016 ^{ns}	14/56 ^{ns}	0/033 ^{ns}	3537/36 ^{ns}	0/41**	0/005**	225/33**
مکان (C)	1	762/56**	95/82**	1149/73**	0/42**	278669/49**	1/32**	0/018**	192**
V×C	1	0/0001 ^{ns}	1/53 ^{ns}	0/61 ^{ns}	0/006 ^{ns}	1513/13 ^{ns}	1/03**	0/00007 ^{ns}	133/33**
خطا	8	1/99	1/51	1/67	0/012	878/14	0/033	0/0002	7
ضریب تغییرات (%)		4/98	19/55	9/43	11/19	17/62	3/39	6/54	4/02

ادامه جدول 1- تجزیه واریانس خصوصیات فیزیکوشیمیایی ارقام خرما

منابع تغییرات	درجه آزادی	اسیدیته	کربوهیدرات (%)	پروتئین (%)	تانن (mg/gFW)	فلن (mg/gFW)	فلاونوئید (mg CEQ/gFW)	آنتی اکسیدان (mgFW)
رقم (V)	1	0/000014 ^{ns}	77/72**	0/92*	0/69 ^{ns}	3/11*	5/60**	8/01*
مکان (C)	1	0/000014 ^{ns}	4/22 ^{ns}	8/35**	4/79**	46/76**	549/45**	2/14 ^{ns}
V×C	1	0/00011**	7/33 ^{ns}	0/39 ^{ns}	0/003 ^{ns}	38/27**	0/56 ^{ns}	36/59**
خطا	8	0/00009	2/14	0/10	0/22	0/52	0/28	1/47
ضریب تغییرات (%)		15	8/85	4/64	3/67	4/14	2/45	2/19

*، ** و ^{ns} به ترتیب نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال 1%، 5% و عدم معنی دار می باشد.

خصوصیات شیمیایی

تغییرات رنگ

نتایج تجزیه آنالیز داده نشان داد تغییرات رنگ ارقام خرما بیشتر تحت تأثیر مکان جمع آوری قرار گرفت. مشابه نتایج پژوهش حاضر، Orojloo (2016) نشان دادند شاخص b^* به طور قابل توجهی در رقم زاهدی بیشتر از رقم پیارم بود. بنابراین فاکتورهای مختلف رنگ در یک رقم تحت تأثیر مکان قرار می گیرد.

درصد رطوبت

بیشترین درصد رطوبت در رقم پیارم و کمترین درصد رطوبت در رقم زاهدی مشاهده شد (جدول 2). کمترین درصد رطوبت در خرماي چهارم مشاهده شد (جدول 3). با توجه به اینکه پیارم جز ارقام نیمه خشک و زاهدی از ارقام خشک می باشد چنین نتیجه ای انتظار

می رفت. نتایج این تحقیق نشان داد که در یک رقم مشخص شرایط اقلیمی منطقه رشد بر درصد رطوبت میوه نیز موثر می باشد. درصد رطوبت میوه خرما در مرحله تمار بستگی به نوع رقم میوه دارد که بر اساس محتوی آب میوه در زمان برداشت و سفتی بافت هنگامی که کاملاً رسیده است شامل: نرم، نیمه خشک و خشک می باشند. رطوبت بافت میوه یکی از ویژگی های کیفی مهمی است که علاوه بر تأثیر مستقیم بر خواص سفتی و کشسانی آن، بر استعداد رشد میکروارگانیسم های مختلف نیز مؤثر است. مناسب ترین مقدار رطوبت بافت میوه خرما از نظر قابلیت نگهداری، حدود 25% می باشد (Barrevel, 1993). نتایج به دست آمده در این پژوهش در راستای پژوهش (Amira, 2011) می باشد. موسوی و حجتی (1388) در مقایسه با نتایج بدست آمده در این پژوهش درصد رطوبت بیشتری در رقم زاهدی گزارش کردند. در تحقیق دیگری دامنه رطوبتی ارقام

اسید قابل تیتراسیون (TA)

همانطور که در جدول 4 نشان داده شده است، رقم زاهدی حاجی آباد بیشترین اسید قابل تیتراسیون را دارا بود که با رقم پیارم جهرم تفاوت معنی داری نداشت. ترکیبات آلی غالب در میوه خرما، اسید مالیک و اسید سیتریک می باشد (مرتضوی و همکاران، 1385). اسید قابل تیتر تأثیر مهمی در طعم میوه دارد (چراغی دهدزی و همدی 1391). نتایج حاصل از میزان اسید قابل تیتر با نتایج (Rastegar, 2015) مطابقت دارد.

مواد جامد محلول کل میوه (TSS)

نتایج بیانگر آن است که رقم زاهدی حاجی آباد بیشترین مواد جامد محلول را در بین ارقام و مکان‌های مختلف داشت (جدول 4). نتایج پژوهش حاضر مطابق با نتایج Tavakoli and Rahemi (2014) در خرما می باشد که کباب بود.

مختلف خرما در کشور پاکستان، در مرحله تمار 4/17% - 3/14 بیان شده است (Jamro et al., 2016).

اسیدیته

پیارم حاجی آباد و جهرم و زاهدی جهرم بیشترین مقدار اسیدیته را نشان دادند و زاهدی حاجی آباد کمترین مقدار اسیدیته را نشان داد (جدول 4). اسیدیته یا غلظت یون‌های H^+ بر روی مزه تأثیر ندارد و اهمیت آن بیشتر به دلیل تأثیر بر واکنش‌های آنزیمی و فعالیت میکروارگانیسم‌ها (مخمرها و باکتری‌ها) می باشد، بنابراین در مقایسه با اسید قابل تیتراسیون، تغییرات اسیدیته از ارزش کمتری به عنوان یک پارامتر کیفی مؤثر بر مزه برخوردار است (Garcia et al., 2004). Orojloo (2016) مقدار اسیدیته ارقام خرما پیارم و زاهدی در مرحله تمار را 6/03-6/50 بیان کرد. نتایج حاصل به جز رقم زاهدی حاجی آباد در راستای نتایج (Abekhti et al., 2013) قبل از انبارمانی می باشد.

جدول 2- بررسی اثر رقم بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی ارقام خرما

رقم	وزن میوه (g)	b^*	رطوبت (%)	فلاونوئید (mg CEQ/gFW)	پروتئین (%)	کربوهیدرات (%)
پیارم	28/38 ^a	12/61 ^b	0/26 ^a	22/22 ^a	7/09 ^a	70 ^b
زاهدی	23/97 ^b	14/81 ^a	0/22 ^b	20/85 ^b	6/54 ^b	85/03 ^a

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی دار ($P < 0/01$) می باشد.

درصد بیان کردند. Ismail و همکاران (2006) در بررسی ارقام خرما، میزان کربوهیدرات خرما را 72%-70% اعلام کردند. Ali و همکاران (2009) میزان کربوهیدرات ارقام خرما عمان را 75/37% - 68/53% بیان کردند. Al-Harrasi و همکاران (2014) میزان کربوهیدرات ارقام خرما در مرحله تمار را 76% بیان کردند.

پروتئین

بررسی نتایج حاصل از جداول 3 و 2 نشان داد، رقم پیارم پروتئین بیشتری نسبت به رقم زاهدی داشته است و میزان پروتئین خرما پیارم بالاتر از خرما حاجی آباد بوده است. در مقایسه مقدار پروتئین به دست آمده در این پژوهش با دیگر تحقیقات میوه خرما، نتایج به دست آمده از خرما پیارم در مرحله تمار در راستای نتایج (Rastegar et al., 2012; Rastegar, 2015) می باشد. با این حال، میزان پروتئین رقم زاهدی در این پژوهش در مقایسه با دیگر تحقیقات میوه خرما، داده در سطح بالاتری می باشد (Hasnaoui et al., 2011; Elleuch et al., 2011; Al-Farsi, 2007; Habib et al., 2010; Hasnaoui et al., 2008). تفاوت در محتوی پروتئین ارقام مختلف به دلیل شیوه متفاوت روش اندازه گیری، عصاره گیری،

شاخص طعم میوه (TSS/TA)

مقایسه میانگین مربوطه (جدول 4) نشان می دهد که رقم زاهدی جهرم بیشترین شاخص طعم را داشت. گرچه، با رقم زاهدی و رقم پیارم حاجی آباد تفاوت معنی داری نشان نداد. شاخص طعم که نسبت قند به اسید می باشد به عنوان درجه رسیدگی مطرح می شود (Valero et al., 2006). معمولاً با توجه به افزایش قند و کاهش اسیدیته میوه این شاخص افزایش می یابد. مطابق با نتایج پژوهش حاضر، Tu و همکاران (2006) اظهار کردند که با افزایش مواد جامد محلول، شاخص طعم افزایش می یابد.

کربوهیدرات کل

نتایج حاصل از مقایسه ارقام نشان داد، رقم زاهدی نسبت به رقم پیارم کربوهیدرات بیشتری دارا بوده است (جدول 2). Al-Shahib and Marshall (2003) اظهار کردند که میزان کربوهیدرات خرما می تواند در مراحل مختلف رشد تا مرحله تمار از حدود 44%-86% تغییر کند. دامنه داده‌های حاصل از این مطالعه مطابق با دیگر تحقیقات می باشد. موسوی و حجتی (1388) میزان کربوهیدرات کل ارقام سایر، زاهدی، حلاوی و دیری را به ترتیب 67، 73، 73 و 67

نوع رقم و شرایط محیطی می‌باشد. تفاوت در محتوی پروتئین بین ارقام با توجه به تفاوت در کشت، خشک کردن متفاوت و روش‌های اندازه‌گیری مورد استفاده می‌باشد. تفاوت کمی در محتوی پروتئین ارقام مختلف خرما مشاهده شد (Ismail *et al.*, 2006).

جدول 3- بررسی اثر مکان نمونه‌برداری بر خصوصیات فیزیکی شیمیایی ارقام خرما

مکان	قطر هسته (mm)	طول/قطر میوه (mm)	طول میوه (mm)	وزن میوه (g)	وزن هسته (g)	l^*
حاجی‌آباد	8/72 ^a	2/16 ^a	41/11 ^a	29/60 ^a	1/25 ^a	20/40 ^b
چهرم	7/40 ^b	1/62 ^b	31/11 ^b	22/74 ^b	0/92 ^b	36/34 ^a

ادامه جدول 3- بررسی اثر مکان نمونه‌برداری بر خصوصیات فیزیکی شیمیایی ارقام خرما

مکان	a^*	b^*	زاویه هیو کروما	رطوبت (%)	تانن (mg/gFW)	فلاونوئید (mg CEQ/gFW)	پروتئین (%)
حاجی‌آباد	3/47 ^b	3/92 ^b	0/82 ^b	15/78 ^b	12/14 ^b	28/30 ^a	5/98 ^b
چهرم	9/12 ^a	23/50 ^a	1/20 ^a	320/56 ^a	13/40 ^a	14/77 ^b	7/65 ^a

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0/01$) می‌باشند.

فنل و فلاونوئید

همان‌طور که در جدول 4 نشان داده شده است، رقم پیارم دارای میزان فلاونوئید بیشتری در مقایسه با رقم زاهدی بوده است و میزان فلاونوئید در خرماهای حاجی‌آباد بالاتر از خرماهای چهرم بوده است. نتایج بدست آمده از خرماهای پیارم در راستای نتایج (رستگار و راحمی، 1394) بود. برهم‌کنش رقم و مکان در فنل نیز در سطح 1% معنی‌دار بود (جدول 1). همان‌گونه که در جدول 3 مشاهده می‌شود بیشترین میزان فنل در رقم زاهدی حاجی‌آباد بود. نتایج حاصل از پژوهش حاضر، نسبت به تحقیقات دیگر داده در سطح پایین‌تری می‌باشد (Sadeghi *et al.*, 2005; Al-Farsi *et al.*, 2007). همکاران (2014) در بررسی خصوصیات ارقام نرم خرما (مضافتی، هلیلی، ربیع و زردان) میزان فنل را بین 8/45 و 4/66 بیان کردند. Al-Farsi and Lee (2008) عنوان کردند محتوی فنل خرماهای خشک به طور قابل توجهی ($p < 0/05$) بالاتر از خرماهای نرم بود. تفاوت در نتایج پژوهش‌های مختلف در مورد میزان فنل ممکن است به دلیل ارقام مختلف، روش‌های اندازه‌گیری فنل و بخصوص استفاده از استانداردهای مختلف فنولیک‌اسید، مانند فرولیک‌اسید و گالیک‌اسید باشد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل

همان‌گونه که در مقایسه میانگین مربوطه (جدول 4) مشاهده می‌شود بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیداتی مربوط به رقم پیارم حاجی‌آباد بوده است که با رقم پیارم و زاهدی چهرم در یک سطح احتمال بود. نتایج این پژوهش با نتایج (Awad *et al.*, 2011) مطابقت دارد. گزارشات مختلف در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه خرما در نقاط مختلف دنیا مانند (Biglari *et al.*, 2008) ایران، (Allaith, 2008) بحرین، (Vinson *et al.*, 2005) آمریکا و (Mansouri *et al.*, 2005) الجزایر اشاره کردند که خرما نه تنها به‌عنوان منبع طبیعی آنتی‌اکسیدان به‌شمار می‌رود بلکه به‌عنوان بهبوددهنده طعم و رنگ محصولات به دلیل فعالیت بالای فنلیک اسید به‌کار می‌رود. آنتی‌اکسیدان، ماده‌ای است که بتواند از آسیب اکسیداتیو به مولکول هدف جلوگیری کند و یا آن را به تاخیر بیندازد. ترکیبات میوه خرما، یک منبع طبیعی از آنتی‌اکسیدان هستند، این ترکیبات شامل جاروبگرهای رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن است که برای سلول‌های زنده خطرناک می‌باشند (Allaith, 2008; Biglari *et al.*, 2008; Al-Farsi and Lee, 2008; Elleuch *et al.*, 2008; Mansouri *et al.*, 2005).

جدول 4- مقایسه میانگین برهم‌کنش رقم و مکان نمونه‌برداری بر خصوصیات فیزیکی شیمیایی ارقام خرما

رقم	مکان	طول میوه (mm)	طول هسته (mm)	وزن گوشت (g)	اسیدیته	اسیدیته قابل تیتراسیون (%)	مواد جامد محلول (%)	شاخص طعم	فنل (mg/gFW)	آنتی‌اکسیدان (mgFW)
پیارم	حاجی‌آباد	43/66 ^a	27/16 ^a	9/37 ^a	5/56 ^a	0/017 ^b	62 ^b	36/52 ^{ab}	18/18 ^b	57/04 ^a
چهرم	چهرم	31/02 ^c	18/78 ^b	6/64 ^c	5/64 ^a	0/021 ^{ab}	60/66 ^b	29/42 ^b	17/81 ^b	54/04 ^{ab}
زاهدی	حاجی‌آباد	38/55 ^b	25/33 ^a	7/53 ^b	4/60 ^b	0/025 ^a	77/33 ^a	32/14 ^{ab}	20/74 ^a	53/25 ^b
چهرم	چهرم	31/19 ^c	20/33 ^b	7/68 ^b	5/85 ^a	0/017 ^b	62/66 ^b	39/46 ^a	13/22 ^c	55/89 ^{ab}

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0/01$) می‌باشند.

تانن محلول

بررسی حاصل از نتایج جدول 3 نشان داد، خرمای چهارم میزان تانن بیشتری نسبت به خرمای حاجی‌آباد نشان داد. سایر محققین نشان دادند تانن در طی رشد و نمو میوه خرما کاهش می‌یابد (Tafti and Fooladi, 2006; Awad, 2011). تانن‌ها که اغلب در لایه‌های تانن دار مزوکارپ یافت می‌شوند عامل اصلی طعم گس میوه‌های نارس می‌باشند. کاهش در محتوی تانن در طی رسیدن ممکن است به دلیل تبدیل لکوسیدین تانن محلول در طی رسیدن به تانن غیرمحلول، که در بخشی از اکسیداتیو غیر آنزیمی قهوه‌ای شدن است، از این رو لیکوآنتوسیانیدین غیرمحلول در طی دوره رسیدن کاهش می‌یابد (Raweewon, 2008). به طور کلی تعادل در تانن محلول و غیرمحلول قابلیت مصرف میوه را تعیین می‌کند.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه خرما از لحاظ تغذیه‌ای دارای ارزش غذایی بالایی می‌باشد، ارقام مورد بررسی از لحاظ ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی غنی برآورد گردید. رقم زاهدی محتوای کربوهیدرات بیشتر اما محتوای فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به پیارم نشان داد. تفاوت خصوصیات فیزیکیوشیمیایی مشاهده شده در ارقام خرمای مورد مطالعه می‌تواند تفاوت در فعالیت زیستی میوه خرما را نشان دهد. به‌طور کلی، نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن بود که بین کیفیت غذایی، رقم و شرایط آب و هوایی در زمان رشد ارتباط مهمی وجود دارد.

منابع

- Abekhti, A., Zarour, K., Boulal, A., Benmechernene, Z & Kihal, M., 2013, Evaluation of Microbiological Quality of the Date Fruit Product "Btana" Produced in Adrar South Algeria. *Journal of Microbiology Research*, 3(5), 163-170.
- Ahmed, A.A., 1999, Date palm post harvest processing technology in Libya. Regional Workshop on Date Palm Postharvest Processing, Technology, Iran.
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily, K., Al-Amry, M & Al-Rawahy, F., 2007, Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food Chemistry*, 104, 943-947.
- Al-Farsi, MA & Lee, Ch.Y., 2008, Nutritional and functional properties of dates: a review. *Critical reviews in food Science and Nutrition*, 48, 877-880.
- Al-Harrasi A., Ur Rehman N., Hussain J., Khan A.L., Al-Rawahi A., Gilan, S.A., Al-Broumi, M & Ali, L., 2014, Nutritional assessment and antioxidant analysis of 22 date palm (*Phoenix dactylifera*) varieties growing in Sultanate of Oman. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(1), S591-S598.
- Ali, A., Al-Kindi, Y.S & Al-Said, F., 2009, Chemical composition and glycemic index of three varieties of Omani dates. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(4), 51-62.
- Allaith, A.A.A., 2008, Antioxidant activity of Bahreini date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit of various cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(6), 1033-1040.
- Al-Shahib, W & Marshall, R.J., 2003, The Fruit of the date Palm: Its Possible Use as the Best Food for the Future? *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 54, 247-259.
- Amira, E.A., Guido, F., Behija, S.E., Manel, I., Nesrine, Z., Ali F., Mohamed, H., Noureddine, H.A & Lotfi, A., 2011, Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at three maturation stages. *Food Chemistry*, 127:1744-1754.
- AOAC: (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis, (16th ed), Virginia, U.S.A. 1994.
- AOAC: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th edn. Arlington, VA: Association Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1990.
- Awad, M.A., Al-Qurashi, A.D & Mohamed, S.A. 2011, Antioxidant capacity, antioxidant compounds and antioxidant enzyme activities in five date cultivars during development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 129, 688-693.
- Barreveld, W.H., 1993, Date Palm Products. Agricultural Services Buletin No 101. 216p. F.A.O., Rome.
- Biglari, F., Abbas, F.M., Alkarkhi, F.M & Azahar, M.E., 2008, Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chemistry*, 107, 1636-1641.
- Bradford, M.M., 1976, A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E & Berset, C. 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H & Chern, J., 2002, Estimation of total flavonoid content in Propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182.
- Cheraghi Dehdezi, S & Hamdami N., 2012. Effect of storage at different temperatures on moisture content, total soluble solids, acidity and pH of dates (*Kabkab variety*). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*.22:131-140.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K & Smith, F. 1956, Colorimetric method for determination of sugar and related

- substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
- Elleuch, M., Besbes, S., Roiseux, O., Blecker, C., Deroanne, C & Attia, H., 2008, Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre. *Food Chemistry*, 111, 676-682.
- FAO [Food and Agriculture Organization]. 2012, Crop production and trade data. (<http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>)
- Garcia, J.C., Valdivia, C.B.P., Martinez, Y.R & Hernandez, M.S., 2004, Acidity changes and pH-buffering capacity of Nopalitos. *Postharvest Biology Technology*, 32, 169-174.
- Habib, H.M & Ibrahim, W. H., 2011, Nutritional quality of 18 date fruit varieties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 1-8.
- Hasnaoui, A., Elhoumaizi, M.A., Asehraou, A., Sindic, M., Deroanne, C & Hakkou, A., 2010, Chemical Composition and Microbial Quality of Dates Grown in Figuig Oasis of Morocco. *International journal of agriculture & biology*, 12(2), 311-314.
- Hasnaoui, A., Elhoumaizi, M.A., Hakkou, A., Wathelet, B & Sindic, M. 2011, Physico-chemical Characterization, Classification and Quality Evaluation of Date Palm Fruits of some Moroccan Cultivars. *Journal of Science Research*, 3, 139-149.
- Hussein, F., Moustafa, S., EL-zeid, A & El-Samiraea, F., 1976, studies on physical and chemical characteristics of eighteen date cultivars grown in Saudi Arabia *Indian Journal of Horticulture*, 33 (2).
- Ismail, B., Haffar, I., Baalbaki, R., Mechref, Y & Henry, J., 2006, Physicochemical characteristics and total quality of five date varieties grown in the United Arab Emirates. *International Journal of Food Science Technology*, 41, 919-926.
- Jamro, M.M.U.R., Laghari, G.M., Buriro, M & Soomro, N.A., 2016, Study on yield parameters of major Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars planted in Sindh, Pakistan. *Pure and Applied Biology*, 5(1), p.1.
- Keramat, G & Khorvash, M., 2001. Combined Variety of Iranian Date Dates. *Journal of Water and Soil Science, Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 6, 198-189.
- Khan, A.S., Singh, Z., Abbasi, N.A & Swinny, E.E., 2008, Pre or post-harvest application of putrescine and low temperature storage affect fruit ripening and quality of Angelino plum. *Science of food and Agriculture*, 88,1686-1695.
- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E & Kefalas, P., 2005, Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89,411-420.
- Mireei, S.A., Mohtasebi, S.S., Massudi, R., Rafiee, Sh., Arabanian, A.S & Berardinelli, A., 2010, Nondestructive measurement of moisture and soluble solids content of Mazafati date fruit by NIR spectroscopy. *Australian Journal of Crop Science*, 4(3),175-179.
- Mortazavi, S.M.H. 2006. Physicochemical changes in the growth stages of fruit and the effect of different packing conditions on quality and shelf life after dates harvesting. Doctor of Science in Horticulture, Tarbiat Modarres University.
- Mostowfi, Y & Najafi, F., 2005, Decomposition Laboratory methods in Horticultural Science. *Publishing in Tehran University*, (1), 136 p.
- Mousavi, A & Hojjati, M., 2009. Qualitative Characterization, Calorie, and Mineral Resources of Four Date Cultivars of Khuzestan Province. *Journal of Science Iran Food Industry*, 8, 31-37.
- Orojloo, M., M. Orojloo. 2016, Evaluation of the physical characteristics and nutritional value of five varieties of dates (*Phoenix dactylifera* L.) in two years of storage. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 5(1), 319-334.
- Pek Z., Helyes L & Lugasi, A., 2010, Color changes and antioxidant content of vine and postharvest ripened tomato Fruits. *Horticultural Science*, 45, 466-468.
- Rastegar, S., 2015, Compare physico-chemical and nutritional properties of some date (*Phoenix dactylifera*) palm varieties. *Tropical Agriculture*, 92(3), 220-227.
- Rastegar, S., Rahemi, M., Baghizadeh, A & Gholami, M., 2012, Enzyme activity and biochemical changes of three date palm cultivars with different softening pattern during ripening. *Food Chemistry*, 134, 1279-1286
- Rastegar, S & Rahemi, M., 2016. Sugars, organic acids and phenolic compounds in Shahani, Piarom and Deiry date palm. *Journal of Horticulture Science*, 30(2), 217-223.
- Raweewon, D., 2008, Natural essential oils from lemon grass (*Cymbopogon citrates*) to control postharvest anthracnose of mango fruit. *International Journal of Biotechnology*, 10, 104-108.
- Sadeghi, Z., Valizadeh, J & Azizian Shermeh, O., 2015, Antioxidant activity and total phenolic contents of some date varieties from Saravan Region, Baluchistan, Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9(34), 78-83.
- Tafti A.G., & Fooladi, M.H., 2006, A study on the physico-chemical properties of Iranian Shamsaei date at different stages of maturity. *World Journal of Dairy and Food Sciences*, 1, 28-32.
- Taira, S., 1996, Astringency in persimmon. In: Modern methods of plant analysis, fruit analysis, Linskens, H.F., Jackson, J.F. (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 18, 97-110.
- Tavakoli, K & Rahemi M., 2014, Effect of Polyamines, 2, 4-D, Isopropyl Ester and Naphthalene Acetamide on

- Improving Fruit Yield and Quality of Date (*Phoenix dactylifera* L.), *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1(2), 163-169.
- Tu, K., Shao, X.F., Chen, L., Jing, W., Wang, H., Chen, Y.Y & L.Q, Pan., 2006, Effect of pre-storage hot air treatments on the postharvest quality and blue mold control of 'Red Fuji' apple fruit. *Acta Horticulture*, 712,793-798.
- Valero, D., Valverde, J.M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Castillo, S & Serrano, M., 2006. The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 317-327.
- Vayalil, P.K., 2012, Date fruits (*Phoenix dactylifera* Linn.): an emerging medicinal food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52, 249-271.
- Waterhouse, A.L., 2002, Determination of total phenolics. In: Wrolstad, R.E. (Ed.), *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. JohnWiley and Sons, New York, unit I: 111-118.



Assessment of physicochemical properties and bioactive compound of date fruit (*Phoenix dactylifera*) in two cultivars, "Piarom" and "Zahedi"

S. Zarbakhsh¹, S. Rastegar^{2*}

Received: 2016.11.09

Accepted: 2017.06.10

Introduction: The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) plays an important social, environmental, and economic role for many people living in arid and semiarid regions of the world. Fruits of the date palm are very commonly consumed in many parts of the world and considered as a vital component of the diet and a staple food in most Arab countries. Nearly 2000 cultivars of date palm are known in the world, but only some have been evaluated for their performance and fruit quality. Dates are rich in certain nutrients and provide a good source of rapid energy, due to their high carbohydrate content (70–80%). Moreover, date fruits contain fat (0.20–0.50%), protein (2.30–5.60%), dietary fiber (6.40–11.50%), minerals (0.10–916 mg/100 g dry weight), and vitamins (C, B1, B2, B3, and A) with very little or no starch. The aim of the present work was to investigate the chemical composition, carbohydrate, and antioxidant capacity of two date palm varieties grown in Hormozgan and Farce province.

Materials and methods: After collection, all date samples were washed with tap water, and the seeds were removed, dried at room temperature under shadow. Moisture content was determined by drying samples in oven at 60 °C until constant weight was attained. The determination of proteins was done by Bradford method. Color measurement of fruit made using a portable CR-400 colorimeter (Minolta Chroma Meter CR-400 Osaka Japan). Total polyphenols were determined as described by Waterhouse, 2002. The results were expressed as milligram gallic acid equivalents per 100 g of dry weight (mg GAE/100 g DW). Total flavonoids content (TFC) of the date extracts were measured according to the colorimetric assay of Chang *et al.*, 2002. The hydrogen peroxide (H₂O₂) scavenging ability of palm dates was carried out using 2, 2-diphenyl- 1-picryl hydrazyl (DPPH) spectrophotometric method described by Choi with some modification.

Results and Discussion: Based on the results, The highest fruit length (43.6 mm), weight of pulp (9.3 g) and antioxidant activity (57 mgFW) were found in Piarom date of Hajiabad and the highest phenol (20.7 mg/gFW), TSS (77.3%) and titratable acid (0.023%) were recognized in Zahedi date of Hajiabad. Although date varieties from Jahrom showed better color index and tannin content than Hajiabad date. In comparison between two varieties, Piarom date was better in fruit weight (28.3 g), moisture content and protein content (7%) and flavonoids (22.2 mg CEQ/gFW) than the Zahedi date. However, the carbohydrate of Zahedi date (85%) was higher than the Piarom date. Therefore, in addition to the variety, location and climate condition also have the important role in determining the nutritional value of date palm fruit.

Keywords: carbohydrate, Date, flavonoids, phenols, protein

1 and 2. M.Sc and Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar abbas, Iran.

(*Corresponding Author Email: srastegar2008@gmail.com)

شناسایی مولکولی و تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک و بررسی فیلوژنتیکی لاکتوباسیلوس پلانناروم در نمونه‌های خمیر ترش صنعتی و سنتی

الهام اسحاق آبادی¹ - فرج الله شهریاری² - محمدرضا نصیری^{3*} - محمد رضا عدالتیان دوم⁴ - امین میرشمسی کاخگی⁵

تاریخ دریافت: 1394/07/25

تاریخ پذیرش: 1396/02/11

چکیده

باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) گروهی از باکتری‌های گرم مثبت، بدون اسپور هستند که عموماً به‌عنوان ارگانسیم‌های ایمن در نظر گرفته می‌شوند. از آنجایی که این باکتری‌ها توانایی تولید تغییرات مطلوب را در طعم و بافت غذا دارا هستند و بنا به اهمیت لاکتوباسیل‌ها در سلامت انسان، شناسایی مولکولی و بررسی فیلوژنتیکی لاکتوباسیل‌های جداشده از خمیر ترش نمونه محلی تربت جام و المان بر اساس توالی 16S RNA مهم‌ترین هدف این مطالعه است. بدین منظور خمیر ترش بر اساس خصوصیات ارگانولپتیکی (عطر و طعم) از شهرستان تربت جام جمع‌آوری گردید. نمونه DNA از خمیر ترش المان به‌طور مستقیم استخراج گردید. پس از استخراج DNA تکثیر قطعه 253 جفت‌بازی از ژن 16S RNA ریبوزومی توسط آغازگرهای اختصاصی انجام گرفت. سپس قطعات تکثیر شده تعیین توالی شدند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در موقعیت 182 و 205 به ترتیب تغییرات نوکلئوتیدی A/C و T/C وجود دارد که در موقعیت 182 اسید آمینه هیستیدین به پرولین و در موقعیت 208 اسید گلوتامین به کدون پایان تغییر داده شد. همچنین توالی نهایی بدست آمده از نمونه تربت جام با طول 253 جفت‌بازی شامل 24/1 درصد آدنین، 22/1 درصد گوانین، 27/3 درصد سیتوزین و 26/5 درصد تیمین بود. نتایج فیلوژنتیکی با استفاده از روش Neighbor-Joining نشان داد، که باکتری لاکتوباسیلوس پلانناروم جدا شده از خمیر ترش نمونه محلی تربت جام کمترین فاصله ژنتیکی با المان، چین و هلند و بیشترین فاصله ژنتیکی با لاکتوباسیلوس پلانناروم فرانسه دارد.

واژه‌های کلیدی: اسید لاکتیک، خمیر ترش، ژن 16Sr RNA، تعیین توالی

مقدمه

ویژگی‌های حسی مطلوب و عاری از افزودنی‌های شیمیایی، از دغدغه‌های صاحبان صنایع نانوايي، متولیان امر نظارت بر تولید و همچنین مصرف‌کنندگان نان بوده است. از بین روش‌های متعدد مانند افزودن آنزیم‌های سنتزی، صمغ‌ها، امولسیفایرها و بهبوددهنده‌های مختلفی که امروزه در دنیا بدین منظور مورد استفاده قرار می‌گیرند، استفاده از خمیر ترش که ضمن افزایش زمان ماندگاری نان، سبب بهبود ویژگی‌های حسی و ارزش تغذیه‌ای آن نیز می‌شود، جایگاه ویژه‌ای دارد (Katina et al., 2006). براساس جدیدترین تعاریف، خمیر ترش یک سیستم بیولوژیکی بسیار پیچیده است و اساس تشکیل آن هم‌زیستی بین فلور میکروبی آرد و کشت‌های تجاری لاکتوباسیل می‌باشد که به‌عنوان آغازگر اختصاصی و به دلایل خاص مانند بهبود عطر و طعم، زمان ماندگاری، ارزش تغذیه‌ای و یا حتی ایجاد خواص سلامتی بخش در فرایند تخمیر نان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Katina et al., 2006). نقش اصلی خمیر ترش به دلیل دارا بودن باکتری‌های اسید لاکتیک به‌عنوان یک تکنولوژی، برای تخمیر و ورآمدن خمیر مطرح بوده است (Rizzello et al., 2014). تخمیر اولیه خمیر احتمالاً توسط مخلوطی از مخمرها و باکتری‌های اسید

نان به‌عنوان یکی از ارکان اصلی تأمین احتیاجات غذایی انسان در طول تاریخ از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده است. نقش نان در تغذیه، تأمین انرژی است (Clarke & Arendt, 2005). در چند سال اخیر مصرف نان به دلایل متعدد از جمله بالا رفتن هزینه سایر مواد غذایی افزایش قابل ملاحظه‌ای یافته است. اهمیت به کیفیت نان، اهمیت به کیفیت حیات است و همچنین با توجه به اهمیت تغذیه‌ای و بهداشتی نان، اولین قدم در تولید نان سالم، انتخاب مواد اولیه مناسب و مطلوب، تهیه فرمول مناسب و روش عمل‌آوری صحیح خمیر می‌باشد. همواره تولید صنعتی نان با زمان ماندگاری مناسب،

1. و 2- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- 3- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- 4- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

(Email: nassiry@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/iftstr.v1396i0.50581

درجه سانتی‌گراد و با مدت زمان 24 تا 48 و حداکثر 72 ساعت بسته به نوع باکتری انتقال داده شدند.

از پلیت‌های دارای بالاترین رقت، کلنی‌هایی که از نظر شکل ظاهری، حاشیه کلنی، رنگ و سایر ویژگی‌های مورفولوژیکی متفاوت بودند، انتخاب شده و سپس هر کدام در پلیت جداگانه کشت خطی داده شدند و پس از چندبار کشت خطی به منظور خالص‌سازی بیشتر کلنی‌های خطی از هر جدایه به دست آمد. کلونی‌های خالص در هر پلیت از نظر رنگ‌آمیزی گرم و آزمون کاتالاز مورد بررسی قرار گرفت و ریخت سلولی با کمک میکروسکوپ نوری مشاهده گردید. جدایه‌های گرم مثبت و کاتالاز منفی جدا شده برای بررسی‌های بعدی در محیط MRS مایع حاوی 20% گلیسرول به صورت منجمد نگهداری شد (Sengun et al., 2009).

استخراج DNA

به منظور ایجاد سوسپانسیون میکروبی، هر جدایه در محیط کشت آبگوشت MRS به مدت یک شبانه‌روز در دمای 30 درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. DNA جدایه‌های میکروبی با استفاده از کیت استخراج DNA (مریکا، Thermo, K721) با اندکی تغییرات در دستورالعمل کیت استخراج شد. کمی و کیفیت DNA استخراجی با استفاده از الکتروفوروز روی ژل آگارز 1 درصد و دستگاه نانودراپ اسپکتوفوتومتر (آمریکا، Thermo ND-2000) تعیین گردید.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

به منظور تکثیر قطعه‌ای 253 نوکلئوتیدی ژن 16SrRNA باکتری لاکتوباسیلوس پلاتناروم، یک جفت آغازگر اختصاصی با توالی رفت 5' AATTGAGGCAGCTGGCCA 3' و پرایمر برگشت 5' GATTACGGGAGTCCAAGC 3' با استفاده از نرم‌افزار Primer Premier 5 طراحی شدند. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز توسط دستگاه ترموسایکلر Biometra (آلمان، T-personal) و در 36 درجه حرارتی انجام پذیرفت (Hellemans & Vandesompele, 2011). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز با 100 نانوگرم DNA ژنومی، یک واحد آنزیم Taq پلی‌مرز، 2 میکرولیتر dNTPs 10 میلی‌مولار، 2 میکرولیتر 50MgCl₂ میلی‌مولار، 1 میکرولیتر مخلوط آغازگرهای رفت و برگشت 5 میکرومولار، 2/5 میکرولیتر بافر 10X و آب دو بار تقطیر تا رسیدن به حجم نهایی 25 میکرولیتر انجام شد. برنامه حرارتی شامل واسرشت‌سازی در دمای 94 °C به مدت 30 ثانیه، اتصال در دمای 50 °C به مدت 30 ثانیه و تکثیر در دمای 72 °C به مدت 60 ثانیه؛ و یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای 94 °C به مدت 6 دقیقه و یک مرحله تکثیر نهایی در دمای 72 °C بود. الکتروفوروز محصولات PCR انجام شد و پس از تایید اندازه قطعه

لاکتیک طبیعی موجود در خمیر ترش صورت می‌گیرد. نوسانات پارامترهای فرایند شامل دما، بازده خمیر و مقدار و ترکیب کشت آغازگر کیفیت خمیر ترش را تعیین می‌کنند (Di Cagno et al., 2002). علت اصلی استفاده از خمیر ترش در نان گندم بهبود طعم است (Rizzello et al., 2014).

باکتری‌های اسید لاکتیک دارای توانایی پروتولیتیک و آمیلولیتیک نیز هستند که به میزان زیادی در تأخیر بیاتی نان نیز نقش دارند (Katina et al., 2006). استفاده از آزمون‌های استاندارد میکروبیولوژیکی برای شناسایی لاکتوباسیل‌های خانواده باکتری‌های اسید لاکتیک، ممکن است با مشکلاتی همراه باشد. برای مثال شناسایی گونه‌های نزدیک به هم لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس، زیر گونه دلبروکی و زیر گونه لاکتیس، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، لاکتوباسیلوس پلاتناروم، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی بر اساس خواص فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی کار دشواری است، زیرا این باکتری‌ها در بسیاری از ویژگی‌ها مشترک هستند که در این بین توالی‌یابی نواحی از ژنوم این باکتری‌ها در شناسایی مولکولی باکتری‌های آزمایشگاهی از اهمیت خاصی برخوردار است (Corsetti et al., 1996). لذا در این سال‌های اخیر برای شناسایی دقیق گونه‌ها، روش‌های مختلف PCR و توالی‌یابی ژن استفاده شده است (Giraffa & Neviani, 2001). از این‌رو، در این پژوهش، قطعه 253 جفت بازی از ژن 16S rRNA لاکتوباسیلوس پلاتناروم به روش PCR تکثیر و نسبت به توالی‌یابی این‌ها اقدام گردید. همچنین مقایسه توالی نوکلئوتیدی این ناحیه از لاکتوباسیل پلاتناروم سنتی با توالی نوکلئوتیدی استارتر صنعتی (آلمان) و توالی‌های موجود در بانک جهانی ژن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بر اساس خصوصیات حسی (عطر، طعم) نمونه‌های خمیر ترش از شهرستان تربت‌جام جمع‌آوری و نمونه استارتر صنعتی (خمیر ترش) از شرکت بوکرآلمان تهیه گردید (با رعایت شرایط استاندارد). نمونه‌ها تا زمان انتقال به آزمایشگاه و بررسی‌های میکروبی در دمای 4 تا 6 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به منظور جداسازی سویه‌های میکروبی، ابتدا 10 گرم از نمونه خمیر ترش به 90 میلی‌لیتر از اب پیتون 0/1% منتقل (مرک، آلمان) و پس از هم‌وزنیزه کردن (مدل Seward, UK) کشت سطحی از رقت‌های مختلف بر روی محیط کشت MRS-Agar در دو تکرار برای ایزولاسیون لاکتوباسیل‌ها انجام شد. به این ترتیب که روی هر پلیت 100 میکرو لیتر از هر رقت ریخته و پخش شد. به منظور رشد باکتری‌های مزوفیل و ترموفیل، محیط‌های کشت تلقیح شده به داخل جار بی‌هوازی مرک به همراه گاز پک مدل A در دو دمای 30 و 45

CLC Main نرم‌افزار Create Pairwise Comparison
workbench 5.5 استفاده شد.

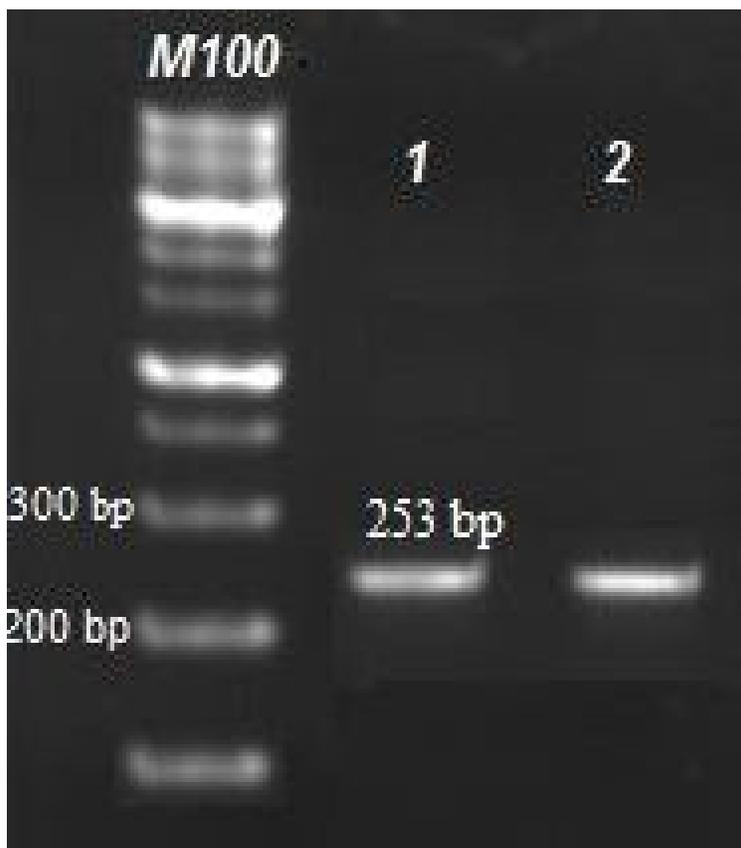
مورد نظر جهت توالی‌یابی به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال گردید (شکل 1).

نتایج و بحث

نتایج طیف‌سنجی و الکتروفورز ژل آگارز نشان داد که DNA استخراج شده از کمیت و کیفیت مناسبی برای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز برخوردار است. الکتروفورز محصولات PCR صحت تکثیر قطعه مورد نظر را توسط آغازگرهای 16SrRNA با طول 253bp تایید می‌کند (شکل 1). سانگ و همکاران (2000) با طراحی پرایمرهای چندگانه توانستند ژن 16SrRNA به طول 350 جفت باز را تکثیر کنند. این محققان حضور باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم را در روده انسان تایید کردند. تورینی و همکاران (2001)، با استفاده از ژن RecA باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم را شناسایی کردند.

آنالیز بیوانفورماتیکی

آنالیز نتایج توالی‌یابی با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی MEGA 5, Chromas Lite 2.01, CLC Main workbench 5.5 و Bio Edit انجام گرفت. ابتداتوالی‌های نوکلئوتیدی به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار Chromas Lite 2.01 ویرایش شدند، پس از تبدیل توالی‌ها به فرمت FASTA، از ابزار BLASTN در پایگاه NCBI و نرم‌افزار CLC Main workbench 5.5 جهت تعیین شباهت توالی بدست آمده با توالی‌های ثبت شده از همین ژن در بانک ژن NCBI استفاده شد. رسم درخت فیلوژنتیکی بین گونه‌های مختلف با استفاده از روش Neighbor-Joining (با 1000 تکرار) نرم‌افزار MEGA 5 انجام شد. جهت تعیین فاصله ژنتیکی از روش



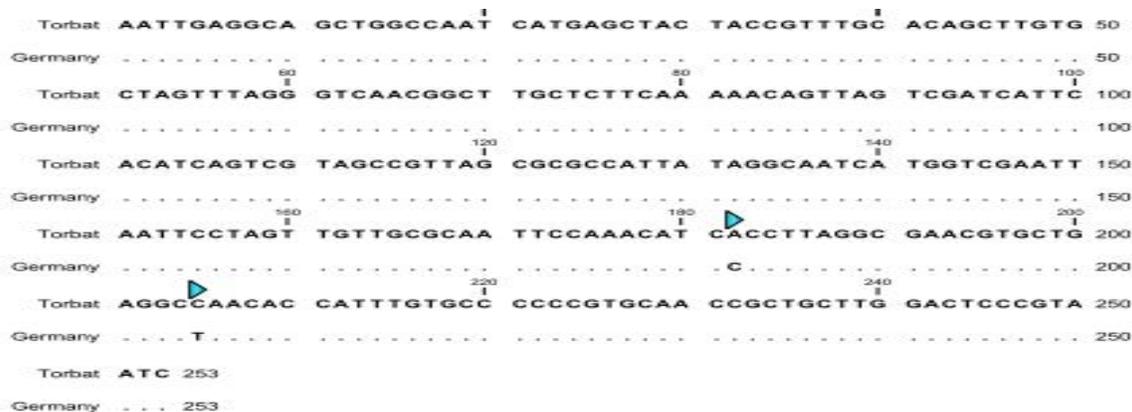
شکل 1- الکتروفورز محصولات PCR ژن 16SrRNA با طول 253bp بر روی ژل آگارز 1/5 درصد

پیریمیدینی (A/C) و دیگری حاصل تبدیل نوکلئوتید پیریمیدینی به پیریمیدینی (T/C) است که این تغییرات به ترتیب سبب تغییر

مقایسه توالی‌های نوکلئوتیدی تربت و آلمان نشان داد که در دو جایگاه جهش جانشینی یکی حاصل تبدیل نوکلئوتید پورینی به

پلاتناروم جدا شده از خمیر ترش تربت‌جام و آلمان نشان داد که در هر دو توالی حاوی G+C 49/4 درصد و A+T 50/6 درصد می‌باشند.

اسید آمینه هیستیدین به پرولین و گلوتامین به کدون خاتمه در چهارچوب توالی اسید آمینه‌ای ژن 16SrRNA شده اند (شکل 2). محتوی نوکلئوتیدی توالی ژن 16SrRNA در لاکتوباسیلوس



شکل 2- مقایسه تفاوت و شباهت توالی نوکلئوتیدی قطعه 253 جفت بازی ژن 16S rRNA لاکتوباسیلوس پلاتناروم جدا شده از نمونه‌های خمیر ترش (تربت جام) سنتی و صنعتی (آلمان)

به جدول شماره 1 می‌توان نتیجه گرفت که لاکتوباسیل پلاتناروم نمونه‌های خمیر ترش آلمان، چین و هلند و کمترین شباهت با لاکتوباسیل خمیر ترش فرانسه می‌باشد. این نتایج با نتایج تورینی و همکاران (2011) مطابقت دارد. آنها گزارش کردند که باکتری‌های لاکتوباسیل پلاتناروم کشورهای اروپایی (آلمان، بلژیک، ایتالیا) در یک شاخه قرار می‌گیرند.

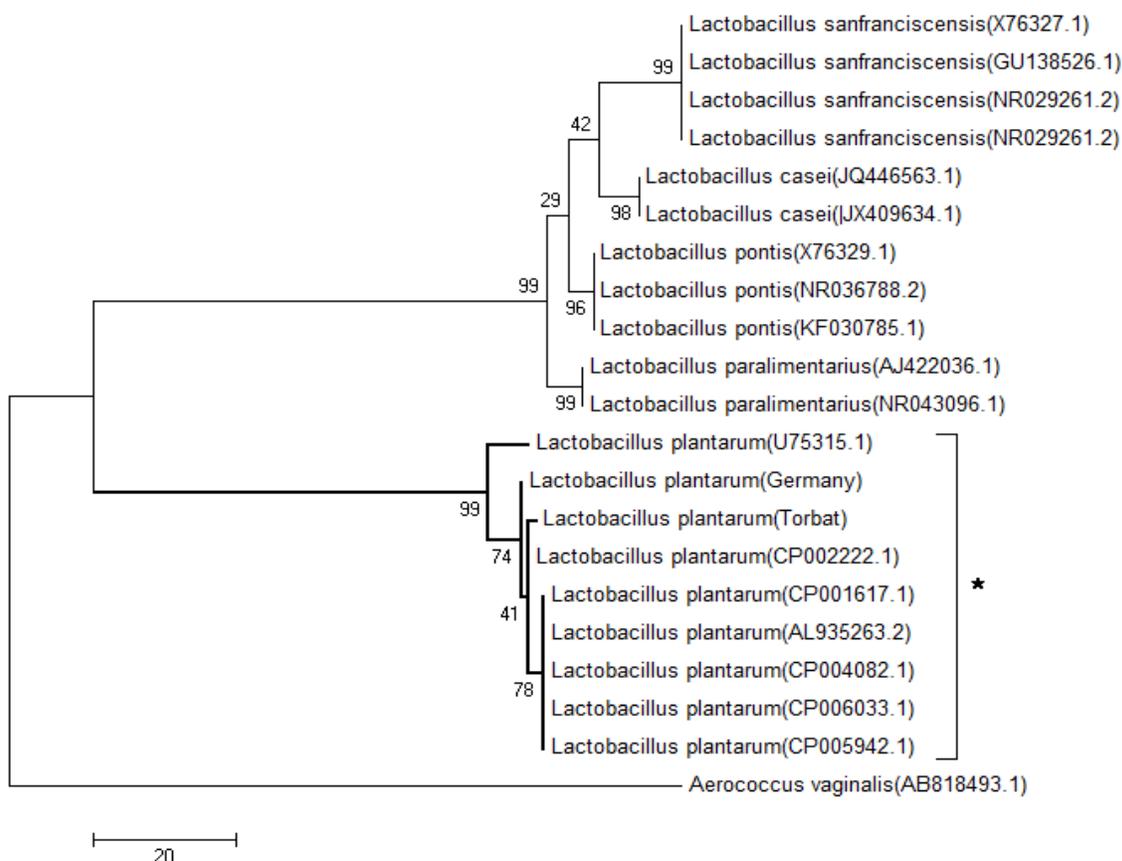
انالیز فیلوژنتیکی و محاسبه فواصل فواصل ژنتیکی توالی‌های 16srRNA لاکتوباسیلوس پلاتناروم در نمونه‌های تربت‌جام و آلمان با سایر توالی‌های لاکتوباسیل‌های موجود در خمیر ترش موجود در پایگاه NCBI با استفاده از نرم‌افزار 5.5 CLC Main workbench انجام شد (جدول 1). با توجه به اینکه فاصله ژنتیکی با همبستگی فیلوژنتیکی مرتبط است در نتیجه از این شاخص هم می‌توان برای تعیین دوری و نزدیکی ژنتیکی موجودات مختلف استفاده کرد. با توجه

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Torbat	1	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.07
Germany	2	99.21	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.06
CP002222.1	3	98.42	98.42	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.08
CP006033.1	4	98.02	98.02	98.81	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08
CP005942.1	5	98.02	98.02	98.81	100.00	0.00	0.00	0.00	0.08
CP004082.1	6	98.02	98.02	98.81	100.00	100.00	0.00	0.00	0.08
AL935263.2	7	98.02	98.02	98.81	100.00	100.00	100.00	0.00	0.08
CP001617.1	8	97.63	97.63	98.41	99.60	99.60	99.60	99.60	0.09
U75315.1	9	93.28	94.07	92.49	92.09	92.09	92.09	91.70	

جدول 1- ماتریس فواصل ژنتیکی و درصد تشابه که با نواحی قطعه 253 جفت بازی از ژن 16S rRNA لاکتوباسیلوس پلاتناروم جدا شده از خمیر ترش کشورهای مختلف بدست آمده است. مثلک بالایی، فواصل ژنتیکی و مثلک پایینی، درصد تشابه ژنتیکی را نشان می‌دهند.

محققین گزارش کردند که باکتری‌های لاکتوباسیل پلانتاروم کشورهای اروپایی (آلمان، بلژیک، ایتالیا) در یک شاخه قرار دارند. در نتیجه این قرابت ژنتیکی به آماده‌سازی خمیر در کشورهای مختلف بر می‌گردد. به‌منظور شناسایی باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم ژن 16S rRNA در خمیرترش‌های کشور آلمان و بلژیک، تعیین توالی کردند و نتایج رسم درخت فیلوژنی نشان داد که لاکتوباسیلوس پلانتاروم کمترین فاصله را با لاکتوباسیل پوینتیس و بیشترین فاصله را با لاکتوباسیلوس سانفرانسیس و لاکتوباسیلوس سالیاریوس داشت.

به‌منظور تایید نتایج حاصل از ماتریس فواصل ژنتیکی، درخت فیلوژنتیک توالی‌های 16S rRNA با استفاده از نرم‌افزار MEGA 5 ترسیم شد (شکل 2). درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده نتایج به‌دست آمده از ماتریس فواصل ژنتیکی را تایید کرد. بطوریکه بر اساس آن لاکتوباسیلوس پلانتاروم نمونه‌های تربت جام و آلمان در یک زیر گروه قرار گرفتند. که این موضوع بیانگر قرابت ژنتیکی تقریباً نزدیک این دو لاکتوباسیلوس بود (وگل و همکاران، 1994). نتایج بدست آمده از این مطالعه با نتایج کیتاهاارا و همکاران (2004) مطابقت داشت این



شکل 3- نمودار فیلو ژنتیکی توالی ژن 16S rRNA لاکتوباسیلوس پلانتاریوم تربت و گونه‌های بررسی شده.

گونه پلانتاروم خمیرترش‌های چین، هلند، ایرلند، بلژیک، ایتالیا و همچنین پلانتاروم تربت جام (تحقیق حاضر) در یک مجموعه قرار می‌گیرند که نشان از شباهت پلانتاروم تربت‌جام با گونه‌های پلانتاروم اشاره شده می‌باشد از طرف دیگر پلانتاروم آلمان نیز در یک کلاد با پلانتاروم فرانسه قرار گرفته است. قابل ذکر است که پلانتاروم فرانسه نیز با کلیه پلانتاروم‌های مورد مطالعه در این پژوهش در یک کلاد قرار گرفته‌اند. کلادهای تفکیک شده برای گونه‌های سانفرانسیس، کازی و پوینتیس نیز قابل مشاهده است.

نمودار فیلو ژنتیکی توالی قطعه 253 جفت بازی ژن 16S rRNA جنس لاکتوباسیل‌ها را در خمیرترش تربت، آلمان و سایر لاکتوباسیل‌ها نشان می‌دهد.

نکته قابل توجه در شکل 3 قرار گرفتن جنس و گونه لاکتوباسیلوس پلانتاروم در یک کلاد می‌باشد که نشان از دقت توالی‌یابی و اینکه توالی‌یابی قطعه 253 جفت بازی از ژن 16S rRNA می‌تواند تفکیک بین گونه‌های مختلف را باعث گردد، می‌باشد. از طرف دیگر در داخل این کلاد نیز تفاوت‌های وجود دارد به‌طوری‌که

نتیجه گیری

در یک کلاد قرار گرفت به‌طور کلی نتایج این مطالعه به‌خوبی نشان داد در باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم برای مناطق تربت‌جام و آلمان تنوع ژنتیکی وجود دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج شده از پروژه پژوهشی به‌شماره 100884 مصوب معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. لذا، بدین وسیله از آن معاونت محترم تقدیر و تشکر می‌گردد. تصویب این پروژه از محل حمایت‌های مالی شرکت صنایع پخت مشهد می‌باشد که مراتب تشکر و قدردانی را از آن شرکت محترم داریم. پروژه در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی انجام گرفته و بدین ترتیب از مسئولان مربوطه نیز کمال تشکر را داریم.

توالی‌یابی قطعه 253 جفت از ژن RNA 16s ریبوزومی لاکتوباسیل پلانتاروم تفاوت نوکلئوتیدی رادر موقعیت 205 و 182 نشان داد که خود نشان از تفاوت ژنتیکی این دو گونه می‌باشد این مشاهده، فرضیه وجود سویه‌های جدید و متفاوتی را ثابت می‌کند با این حال برای تعیین نوع سویه نیاز به مطالعاتی بیشتری می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد میان لاکتوباسیلوس پلانتاروم موجود در نمونه‌های خمیر ترش تربت‌جام و آلمان شباهت 99/21 درصدی وجود داشت. در عین حال با توجه به اینکه هر دو این باکتری‌ها در یک جنس و گونه هستند لذا این درصد قابل پیش‌بینی بود. رسم درخت فیلو ژنتیک نیز نمونه لاکتوباسیلوس پلانتاروم خمیرترش محلی تربت‌جام و آلمان را در یک گروه خوشه قرار داد (شکل 3). با این وجود لاکتوباسیلوس پلانتاروم با لاکتوباسیلوس نمونه‌های فرانسه

منابع

- Chavan R.S., & Chavan S.R. 2011. Sourdough technology- a traditional way for wholesome foods: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10: 170-183.
- Clarke C.I., & Arendt E.K. 2005. A review of the application of sourdough technology to wheat breads. *Advances in Food and Nutrition Research*, 49: 137-156.
- Corsetti A., Gobbetti M. & Smacchi E. 1996. Antibacterial activity of sourdough lactic acid bacteria: isolation of a bacteriocin like inhibitory substance from *Lactobacillus sanfrancisco* C57. *Food Microbiology*, 13: 447-456.
- De Vuyst L. & Vancaeyne M. 2007. Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 24: 120-127.
- Di Cagno R., De Angelis M., Lavermicocca P., De Vincenzi M., Giovannini C., Faccia M. & Gobbetti M. 2002. Proteolysis by sourdough lactic acid bacteria: effects on wheat flour protein fractions and gliadin peptides involved in human cereal intolerance. *Applied & Environmental Microbiology*, 68: 623-33.
- Ehrmann M.A. & Vogel R.F. 2005. Molecular taxonomy and genetics of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 16: 31-42.
- Giraffa G. & Neviani E. 2001. DNA-based, culture-independent strategies for evaluating microbial communities in food-associated ecosystems. *International Journal of Food Microbiology*, 67: 19-34.
- Gobbetti M. 1998. The sourdough microflora: Interactions of lactic acid bacteria and yeasts. *Trends in Food Science & Technology*, 9: 267-274.
- Hellemans J. & Vandesompele J. 2011. Quantitative PCR data analysis - unlocking the secret to successful results. In: Kennedy S., and Oswald N. (Eds.), PCR troubleshooting and optimization, the essential guide. *Caister Academic Press, Norfolk*, pp. 139-149.
- Katina K., Arendt E., Liukkonen K.H., Autio K., Flander L. & Poutanen K. 2005. Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends in Food Science & Technology*, 16: 104-112.
- Rizzello C.G., Curiel J.A., Nionelli L., Vincentini O., Di Cagno R., Silano M., Gobbetti M. & Coda R. 2014. Use of fungal proteases and selected sourdough lactic acid bacteria for making wheat bread with an intermediate content of gluten. *Food Microbiology*, 37: 59-68.
- Sadeghi A. & Mortazavi S.A. 2011. Investigating the sourdough effect on main biological hazards in traditional Iranian flat bread. *Proceedings of the 2nd International Congress of Food Hygiene*. Tehran, pp. 49.
- Sengun I.Y., Nielsen D.S., Karapinar M. & Jakobsen M. 2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from Tarhana, a traditional Turkish fermented food. *International Journal of Food Microbiology*, 135: 105-111
- Singh S., Goswami P., Singh R. & Heller K.J. 2009. Application of molecular identification tools for *Lactobacillus*, with a focus on discrimination between closely related species: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 448-457.
- Torriani S., Felis G. & Dellaglio F. 2001. Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, and *L. paraplantarum* by recA Gene Sequence Analysis and Multiplex PCR Assay with recA Gene-Derived Primers. *Appl. Environ.*

Microbiol. 67(8):3450.

Vogel R., Bocker G., Stolz P., Ehrmann M., Fanta D., Ludwig W., Pot P., Kersters K., Schleifer K. & Walter P. 1994.
International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, R . P. 223-229.



Molecular identification, bioinformatics analysis and phylogenetic relationships of *Lactobacillus plantarum* in traditional and industrial sourdough

E. Eshagh Abadi¹, F. Shahriari Ahmadi², M. R. Nassiri^{*3}, M. R. Edalatian Dovom⁴, A. Mirshamsi⁵

Received: 2015.10.17

Accepted: 2016.04.30

Introduction: Bread is considered as one of the most important commodity which has provided human nutritional needs for several centuries. In recent decades, bread consumption has witnessed tremendous increase due to rising of other foods expenses. Cereal and bread industries has been always concerned about bread production in an industrial scale along with suitable shelf life, acceptable organoleptic properties and free from any chemical additives and preservatives. Among different methods such as addition of synthetic enzymes, gums, emulsifiers and improvers, sour dough has gained special attention besides shelf life enhancement and improvement of sensorial and nutritional features. The main role of sour dough has been prominent for fermentation and gas production in dough as a result of inclusion of Lactic Acid Bacteria (LAB) as a technology. Fluctuation of process parameters including temperature, dough yield and starter culture composition determine the sour dough quality. The main reason of sour dough application in wheat bread is flavor enhancement. Culture-based microbiological examinations have accompanied with some difficulties in accurate and precise identification of Lactobacilli. So, in recent years, in order to identify precisely, different molecular and PCR assays and gene sequencing have been applied. Thus, in present study, fragment of 253bp from 16 S rRNA gene in *Lactobacillus plantarum* was amplified with the help of PCR and sequenced in the next step. Also, comparison of nucleotide sequence of this region of traditional *Lb. plantarum* with nucleotide sequence of industrial starter (Germany) and sequences deposited in Gene Bank was evaluated.

Material and Methods: Sampling: According to sensory properties, sour dough samples were collected from Torbat e jam city and industrial starter sample (sour dough) was prepared from Buker Company, Germany.

Isolation and bio chemical analysis: Ten- fold serial dilutions of samples were prepared and cultured on MRS agar. Gram positive, catalase negative isolates were considered as presumptive LAB.

Molecular Identification: DNA of isolates were extracted according to the procedure of DNA extraction kit (Thermo, K721, USA). In order to amplify the 253 bp fragment of 16S rRNA in *Lb. plantarum*, specific primers were designed using Primer Premier 5. PCR was performed in Biometra Thermocycler (T- personal, Germany) in 36 cycles. In the following step, PCR products were sent to MacroGen Company for sequencing.

Bioinformatics analysis: Analysis of sequencing results was conducted with the aid of bioinformatics soft wares including CLC Main work bench, Chromas Lite 2.01, MEGA 5 and BioEdit. Phylogenetic tree was designed among different isolates using Neighbor-Joining method (bootstrap=1000) in MEGA 5 software. For determination of genetic distance, Create Pairwise comparison method was used in CLC Main workbench.

Results and Discussion: Quality and quantity of extracted DNA samples were confirmed by Gel electrophoresis. PCR and electrophoresis of PCR products confirmed and proved the accuracy and validity of amplified 253 bp fragment with intended primers. Comparison of Torbat and Germany nucleotide sequences demonstrated that two replacement mutations have been occurred including (A/C) and (T/C) in positions 182 and 205, respectively. These changes resulted in replacement of Histidine by Proline, and Glutamine by stop codon.

1. Former of MSc. student of Crop Biotechnology and Breeding, Department of Crop Biotechnology and Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

2. Professor of Crop Biotechnology and Breeding, Department of Crop Biotechnology and Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

3. Professor of Animal Science, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

4. Assistant Professor of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

5. Assistant Professor of Crop Biotechnology and Breeding, Department of Crop Biotechnology and Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

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

Nucleotide content of 16S rRNA gene sequence in *Lb. plantarum* isolated from Torbat e Jam and Germany sour dough samples displayed both sequences contained 49.4% (G+C) and 50.6% (A+T). Phylogenetic results demonstrated that *Lb. plantarum* isolated from Torbat e Jam and Germany samples were classified in the same sub group. This implies the close phylogenetic relationship between these two lactobacilli. In order to identify *Lb. plantarum*, 16S rRNA gene was sequenced in sour dough samples of Germany and Belgium and phylogenetic tree showed that *Lb. plantarum* had the lowest genetic distance with *Lb. pontis* and highest one with *Lb. sanfranciscensis* and *Lb. salivarius*

Keywords: Lactic acid, Sourdough, 16S rRNA gene, Sequencing

بررسی اثر روش‌های مختلف نگهداری بر خصوصیات کمی و کیفی سیب‌زمینی

جعفر نباتی^{1*} - فرشاد ایزدی² - رضا عباسی³ - فرشید حسینی⁴

تاریخ دریافت: 1395/04/31

تاریخ پذیرش: 1395/11/27

چکیده

سیب‌زمینی از محصولات زراعی محسوب می‌شود که قابلیت نگهداری طولانی مدت دارد. نوع بسته‌بندی در کیفیت و طول مدت این نگهداری تأثیر بسزایی دارد. این پژوهش به منظور بررسی اثر روش‌های ذخیره‌سازی سیب‌زمینی در سردخانه شامل، نگهداری در جعبه چوبی، کیسه‌های توری، کیسه‌های پلی‌اتیلن سالم، کیسه‌های پلی‌اتیلن پانچ شده و کیسه‌های پلی‌اتیلن شکاف خورده بر خصوصیات کمی و کیفی آن پس از شش ماه نگهداری در سردخانه انجام شد. این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین درصد افت به ترتیب در کیسه توری و کیسه پلی‌اتیلن سالم مشاهده شد که میزان اختلاف این دو تیمار از هم 2/4 درصد بود. نگهداری غده در کیسه‌های پلی‌اتیلن سالم بیشترین و در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده کمترین درصد پوسیدگی را نشان داد. بیشترین جوانه‌زنی غده‌ها در کیسه‌های پلی‌اتیلن سالم و پانچ شده مشاهده شد و در کیسه توری و جعبه چوبی کمترین جوانه‌زنی رخ داد. اختلاف بین بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی در کیسه پلی‌اتیلن پانچ شده و کیسه توری 16 درصد بود. اختلاف معنی‌داری بین روش‌های مختلف نگهداری از نظر درصد قندهای احیاء و فنول مشاهده نشد. بیشترین درصد نشاسته در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده و کیسه توری و کمترین مقدار نشاسته در کیسه پلی‌اتیلن پانچ شده مشاهده شد. نگهداری غده در کیسه توری بیشترین و در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده کمترین درصد برگه‌های قهوه‌ای چپس را نشان دادند. به‌طور کلی جعبه‌های چوبی، ایجاد شکاف در کیسه‌های پلی‌اتیلن و ایجاد پانچ در کیسه‌ها برای کاهش درصد پوسیدگی و جوانه‌زنی غده‌های سیب‌زمینی می‌تواند راه‌کاری مؤثر برای ذخیره این محصول در سردخانه باشد.

واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی، پوسیدگی، چپس، سردخانه، انبارداری

مقدمه

سیب‌زمینی از محصولات زراعی نیمه فاسدشدنی است اما می‌توان آن را بیشتر از شش ماه در دمای 3-4 درجه سانتی‌گراد در سردخانه نگهداری کرد. انبار کردن سیب‌زمینی در سردخانه برای تأمین منظم و پیوسته برای مصرف‌کنندگان در خارج از فصل تولید ضروری است (Gupta et al., 2014). در ایران بیشتر از 90 درصد تولید سیب‌زمینی در مناطق معتدل و سرد در طی فصل بهار و تابستان صورت می‌گیرد. برداشت سیب‌زمینی در هر فصلی از سال نیازمند نگهداری در شرایط کنترل‌شده از نظر دما دارد بنابراین انبار کردن سیب‌زمینی برای هر نوع مصرف اعم از تازه‌خوری یا فرآوری در سردخانه ضروری است (احمدوند و حسن‌آبادی، 1385). روش‌های سنتی انبارداری سیب‌زمینی قابلیت نگهداری این محصول را برای حدود 60 تا 70 روز دارند (Gupta et al., 2014). مطالعات پیشین در حفظ کیفیت سیب‌زمینی تحت شرایط محیطی یا شرایط غیرسردخانه‌ای مانند کپهای، گودالی و سیستم خنک‌کننده تبخیری (پد و فن) برای تعداد محدودی از ارقام قابل‌استفاده است (Pande and Luthra 2003; Das et al. 2004; Kumar et al. 2005; Mehta et al. 2006).

غده سیب‌زمینی دارای یک دوره خواب فیزیولوژیکی پس از

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) گیاهی اتوتتراپلوئید از خانواده سولاناسه است که مصرف سرانه آن در کشور به بیش از 35 کیلوگرم در سال بالغ می‌گردد (احمدوند و حسن‌آبادی، 1385). سیب‌زمینی در جهان گسترده‌ترین محصول غده‌ای و چهارمین محصول زراعی پس از برنج، گندم و ذرت است (MoA, 2005). سیب‌زمینی از مهم‌ترین محصولات تجاری و غذاها است که نقش مهمی در امنیت غذایی جهان دارد (MoA, 2007). تولید سیب‌زمینی به دلیل کاهش رقابت محصولات نقدی مانند ذرت، لوبیا و جو و همچنین افزایش نیاز مصرف‌کنندگان و صنایع، سیر صعودی دارد (George et al., 2010).

1- عضو هیات علمی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد.

2- مدیر، کارخانه شرکت صنایع غذایی به آراء، مشهد.

3- مدیر، امور زراعی شرکت صنایع غذایی به آراء، مشهد.

4- کارشناس، امور زراعی شرکت صنایع غذایی به آراء، مشهد.

* نویسنده مسئول: (Email: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir
DOI: 10.22067/ifstrj.v1396i0.57671

عوامل تأثیر منفی بر انتخاب مصرف‌کننده خواهند گذاشت (Wang-Pruski & Nowak, 2004). ماده خشک سیب‌زمینی و محتوای قندهای احیاء به صورت ژنتیکی کنترل شده و تحت تأثیر شرایط محیطی در طول دوره رشد و انبارداری نیز قرار می‌گیرد (Kawchuk *et al.*, 2008).

میوه‌ها و سبزی‌ها از محصولات پر آب بوده بنابراین نیاز به روش‌های نگهداری مناسب پس از برداشت دارند. استفاده از بسته‌بندی مناسب زمان انبارداری را به واسطه محافظت در برابر فاسدشدن افزایش می‌دهد (Kittur, 1998). بسته‌بندی یکی از اجزای حیاتی پس از برداشت در زنجیره مدیریت محصولات زراعی است. در ایران و دیگر کشورهای در حال توسعه از کیسه‌های پلی‌اتیلن با ظرفیت 40 تا 80 کیلوگرم برای ذخیره سیب‌زمینی استفاده می‌کنند. در حال حاضر استفاده از کیسه‌هایی با کیفیت پایین و کیسه‌های دست دوم مسئول بیماری‌ها در زمان نقل و انتقال و انبارداری است. در این ارتباط تاکنون دستورالعمل جامعی برای بسته‌بندی سیب‌زمینی در طول زمان انبارداری با روش‌های مختلف ارائه نشده است. در این ارتباط کیفیت سیب‌زمینی برای تولید چیپس پس از انبارداری با کیسه پلی‌اتیلن سالم، پانچ شده، شکاف خورده و کیسه توری و جعبه چوبی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال 1394-1395 در سردخانه راوند واقع در شهرک صنعتی توس، شهرستان مشهد در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایش شامل انواع روش‌های ذخیره‌سازی غده سیب‌زمینی در سردخانه شامل، نگهداری در جعبه چوبی، نگهداری در کیسه‌های توری، نگهداری در کیسه‌های پلی‌اتیلن، نگهداری در کیسه‌های پلی‌اتیلن پانچ شده و نگهداری در کیسه‌های پلی‌اتیلن شکاف خورده بود. هر کیسه توری حاوی 25 کیلوگرم و هر کیسه پلی‌اتیلن حاوی 45 کیلوگرم سیب‌زمینی بود. در جعبه چوبی سیب‌زمینی به صورت فله نگهداری شد وزن غده موجود در این جعبه‌ها 665 کیلوگرم بود. در تیمار کیسه‌های پانچ شده، تعداد 18 پانچ با قطر پنج سانتی‌متری روی هر کیسه ایجاد شد. در تیمار کیسه‌های پلی‌اتیلن شکاف خورده تعداد 18 شکاف 10 سانتی‌متری روی کیسه‌ها ایجاد شد. به جز تیمار نگهداری در جعبه چوبی، سایر تیمارها در جعبه‌های فلزی که چهار طرف آن باز بود به صورت کیسه روی هم چیده شد که متوسط وزن سیب‌زمینی در این جعبه‌ها 1500 کیلوگرم بود.

رقم سیب‌زمینی مورد استفاده در این مطالعه آگریا بود که از یک قطعه زمین شرایط یکسان با مدیریت زراعی واحد از شهرستان قوچان تهیه شد. برداشت در نیمه دوم مهرماه انجام و پس از جداسازی

برداشت است. طول دوره خواب وابسته به تنوع ژنتیکی و عوامل محیطی مانند شرایط انبارداری می‌باشد. ارقام تجاری سیب‌زمینی کشت شده برای فرآوری و صنعت دارای دوره خواب کوتاه‌تری هستند و در این ارتباط اختلالاتی مانند شیرین شدن، جوانه زدن، سمیت و غیره ایجاد می‌گردد؛ بنابراین ایجاد شرایط مناسب انبارداری برای اطمینان از کاهش خسارت اجتناب‌ناپذیر است (Suttle, 2007).

کنترل جوانه‌زنی به صورت کارآمد برای حفظ کیفیت غده و کاهش افت انبارداری ضروری است. جوانه‌زنی به دلیل بالا رفتن تبخیر و تعرق از منافذ و عدسک‌ها می‌تواند افت وزن غده را افزایش دهد و منجر به بالا رفتن میزان قندهای احیاء شود (Hartman *et al.*, 1995). به علاوه، جوانه‌زنی غده باعث بالا رفتن سطح گلیکو آکالوئیدهای سمی می‌شود (Friedman, 2006). جوانه‌زنی سیب‌زمینی را می‌توان با استفاده از مواد مختلف ضدجوانه‌زنی مانند CIPC¹ (Khan *et al.*, 2012)، متوقف‌کننده‌های جوانه مانند اسانس‌ها (Kleinkopf *et al.*, 2003)، تشعشع (Abbasi, 2012)، کاربرد فشار (Saraiva *et al.*, 2011) و تیمار آب گرم (Kyriacou *et al.*, 2008) کنترل کرد.

سیب‌زمینی یک محصول نیمه فسادپذیر است. با این وجود ذخیره آن در دمای پایین موجب ممانعت از جوانه‌زنی و اطمینان از استفاده مجدد در زمان مورد نیاز می‌باشد. در عین حال ذخیره سیب‌زمینی در دمای پایین موجب شیرین شدن² غده‌ها شده که این شرایط در فرآیندهای صنعتی مشکل ایجاد می‌کند (Kyriacou *et al.*, 2009). اتفاقی که در نگهداری سیب‌زمینی در دمای پایین رخ می‌دهد این است که در نتیجه هیدرولیز آنزیمی، نشاسته غیرقابل حل به گلوکز، فروکتوز و ساکارز قابل حل تبدیل می‌گردد (Sowokinos, 1990). شیرین شدن غده‌ها باعث زوال کیفیت تجاری غده‌ها و موجب قهوه‌ای و تلخ شدن فرآورده‌ها به دلیل شکل‌گیری آکریل آمید می‌گردد. آکریل آمید یک ترکیب سمی حاصل از پخت سیب‌زمینی به‌عنوان تولید ثانویه واکنش میلارد در حضور پیش ماده‌هایی مانند قندهای احیاء (گلوکز) و آمینو اسید (آسپریلوس) است (Mottram *et al.*, 2002).

کیفیت فرآورده‌های سیب‌زمینی توسط ماده خشک بالا و میزان قندهای احیاء و ترکیبات فنولی پایین تعیین می‌گردد (Kadam *et al.*, 2009; Abong *et al.*, 1991). ماده خشک بالا، عملکرد و تردی چیپس را افزایش و میزان جذب روغن در طی فرآوری را کاهش می‌دهد (Pedreschi *et al.*, 2005; Rommens *et al.*, 2010). درصد پایین قندهای احیاء و محتوای فنول برای اجتناب از تیره شدن رنگ چیپس و تلخ شدن مزه آن ضروری است زیرا این

1- Chlorpropham
2- Sweetening

درصد نشاسته غده‌ها با استفاده رابطه ذیل (رابطه 3) محاسبه شد (Burton, 1948).

$$(3) \quad (1/0988) - \text{وزن مخصوص غده} = 17/546 + 199/07 \times \text{درصد نشاسته}$$

جهت بررسی کیفیت چپیس هم‌زمان با نمونه‌برداری جهت صفات کیفی نمونه‌هایی برای بررسی کیفیت چپیس به خط تولید شرکت صنایع غذایی به آرا ارسال شد. کیفیت چپیس بر اساس روش رنگ چپیس تولیدی از یک تا 20 نمره دهی شد. در این روش از برگه‌های چپیس عکس‌برداری با استفاده از نرم‌افزار J Micro Vision V1.27 درصد تیرگی در نمونه‌ها تعیین شد و در نهایت نمره دهی بر این اساس انجام شد. اعداد کمتر از 10 غیرقابل مصرف در تولید چپیس، اعداد 10-20 قابل مصرف در تولید چپیس در نظر گرفته شد (1): قهوه‌ای کامل، 20: روشن کامل). شرایط پخت برای تمام نمونه‌ها یکسان در نظر گرفته شد. دمای آب بلانچر 85 درجه سانتی‌گراد به مدت 180 ثانیه و دمای سرخ کن 175 درجه سانتی‌گراد به مدت 130 ثانیه بود.

داده‌های حاصل از طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به‌وسیله نرم‌افزار Minitab 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

میزان افت غده‌های سیب‌زمینی در طول دوره انبارداری عموماً در اثر کاهش درصد آب غده و پوسیدگی برخی از غده‌ها ایجاد می‌شود. بررسی درصد افت در تیمارهای مختلف نگهداری در این مطالعه حاکی از اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0/05$) روش‌های نگهداری از نظر میزان افت سیب‌زمینی بود (جدول 1).

بیشترین و کمترین درصد افت به ترتیب در تیمارهای نگهداری غده‌های سیب‌زمینی در کیسه توری و کیسه پلی‌اتیلن سالم مشاهده شد (شکل 1)، که میزان اختلاف این دو تیمار از هم 2/4 درصد بود. نگهداری سیب‌زمینی در جعبه‌های چوبی درصد افت بیشتری نسبت به کیسه پلی‌اتیلن پانچ شده و شکاف خورده داشت اما این اختلافات معنی‌دار (شکل 1) نبود. ظاهراً غده‌های نگهداری شده در کیسه‌های توری بیشتر از غده‌های نگهداری شده در جعبه‌های چوبی در معرض هوا بوده و مقدار آب بیشتری از دست داده‌اند. کیسه‌های پلی‌اتیلن سالم به دلیل تبادل پایین هوا با محیط اطراف درصد افت کمتری نسبت به سایر روش‌های دیگر نشان داد.

ضایعات به سردخانه منتقل و تیمارهای مورد نظر روی آن‌ها اعمال شد. قبل از انبار کردن غده‌ها توزین تیمارها صورت گرفت. برای ترمیم صدمات مکانیکی زمان برداشت، در ابتدای انبارداری دمای سردخانه در طول مدت سه هفته به تدریج کاهش یافت تا در نهایت دما به شش درجه سانتی‌گراد رسید. رطوبت نسبی برای تمامی تیمارها بین 85 تا 90 درصد در نظر گرفته شد. میزان دی‌اکسید کربن در طول دوره انبارداری بین 700 تا 1000 پی‌پی‌ام با استفاده از سیستم تهویه تحت کنترل حس‌گر تعیین‌کننده دی‌اکسید کربن تنظیم گردید و طول دوره انبارداری شش ماه بود.

جهت کاهش درصد قند و آماده‌سازی برای مصرف، یک هفته قبل از خارج کردن غده‌ها از سردخانه دمای سردخانه به تدریج افزایش و به نه درجه سانتی‌گراد رسید. بلافاصله پس از خارج کردن غده‌ها از سردخانه وزن تیمارها ثبت شد. از هر تیمار به‌طور تصادفی سه کیسه انتخاب و تعداد غده‌های سالم، جوانه‌زده و پوسیده شمارش شد. برای این منظور در جعبه چوبی سه نمونه 100 تایی از قسمت‌های مختلف جعبه استفاده شد. جهت بررسی صفات کیفی مانند درصد قند، میزان فنول کل و کیفیت چپیس، درصد نشاسته، درصد ماده خشک و وزن مخصوص غده، نمونه‌ها انتخاب و به آزمایشگاه منتقل شد.

درصد قندهای احیاء بر اساس روش Ross (1959) اندازه‌گیری شد. نمونه بافت غده (یک گرم) در یک میلی لیتر آب مقطر هم‌وزن‌ناز گردید. مواد جامد نامحلول با استفاده از سانتریفوژ 3000 جی در پنج دقیقه جدا شد. مقدار متناسی از محلول بالایی به نسبت حجمی یک به چهار به ترتیب محلول استخراج شده و محلول دی‌نیترو فنول (مولار 0/038) مخلوط شد. مخلوط حاصل به مدت شش دقیقه در دمای 65-70 درجه سانتی‌گراد نگهداری و بلافاصله زیر آب جاری سرد و در نهایت میزان جذب در 600 نانومتر و استاندارد گلوکز قرائت شد.

غلظت فنول کل در نمونه غده سیب‌زمینی بر اساس روش فولین سیوکالتو (Singleton and Rossi, 1965) تعیین شد. میزان فنول کل بر اساس جذب در طول موج 765 نانومتر و استاندارد گالیک اسید برحسب میلی‌گرم در گرم ماده خشک تعیین شد.

به منظور تعیین وزن مخصوص غده‌ها (گرم بر سانتی‌مترمربع)، حجم غده‌ها از طریق غوطه‌ور شدن آن‌ها در آب (استوانه مدرج) تعیین و سپس با استفاده از رابطه 1، وزن مخصوص غده‌ها تعیین شد (Gould, 1995).

(1) $(\text{وزن غده در هوا} - \text{وزن غده در آب}) / (\text{وزن غده در هوا}) = \text{وزن مخصوص غده}$

درصد ماده خشک غده‌ها به روش بورتن (Burton, 1948) با استفاده از رابطه زیر (رابطه 2) تعیین شد.

(2) $(1/0988) - \text{وزن مخصوص غده} = (211/04 \pm 3/33) + (24/182 \pm 0/035) \times \text{درصد ماده خشک غده}$

پوسیدگی غده‌های سیب‌زمینی در طی زمان انبارداری تحت تأثیر معنی‌دار ($P \leq 0/05$) روش‌های مختلف نگهداری قرار گرفت (جدول 1). در میان روش‌های مورد بررسی، نگهداری غده‌های سیب‌زمینی در کیسه‌های پلی‌اتیلن سالم بیشترین درصد پوسیدگی را نشان داد. نگهداری غده سیب‌زمینی در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده کمترین درصد پوسیدگی را داشت اما اختلاف معنی‌داری ($P \geq 0/05$) با روش‌های نگهداری در جعبه چوبی، کیسه توری و کیسه پلی‌اتیلن پانچ شده نداشت، با این وجود نگهداری سیب‌زمینی در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده نسبت به نگهداری در جعبه چوبی، کیسه توری و کیسه پلی‌اتیلن پانچ شده به ترتیب 0/3، 0/4 و 1/2 درصد افت کمتری داشت (شکل 2).

افت غده‌های سیب‌زمینی در طی دوره انبارداری یک امر فیزیولوژیک اجتناب‌ناپذیر است. کاهش وزن غده‌های سیب‌زمینی به دلیل تنفس و تبخیر از غده صورت می‌گیرد اما کاهش وزن غده‌های سیب‌زمینی به دلیل تنفس بسیار کمتر از تبخیر است (Samotus et al., 1973؛ Butchbaker et al., 1973). ارقام حساس کاهش وزن زیادی در مقایسه با دیگر ارقام دارند که این امر موجب کاهش سود نهایی برای تولیدکنندگان آن‌ها می‌گردد. بنابراین میزان افت در یک رقم باید به عنوان یک عامل مهم در فرایند ذخیره‌سازی مدنظر قرار گیرد. به همین دلیل مطالعات زیادی در ارتباط با علل افت در غده‌های سیب‌زمینی انجام شده است. دما و رطوبت نسبی در طول دوره انبارداری از علل تأثیرگذار در میزان افت غده‌های سیب‌زمینی می‌باشند (Freitas et al., 2012). در این مطالعه بیشترین درصد افت در کیسه‌های توری و در مقابل بیشترین درصد پوسیدگی در کیسه‌های پلی‌اتیلن سالم مشاهده گردد. بنابراین افت مربوط به کیسه توری مربوط به کاهش میزان آب موجود در غده‌های سیب‌زمینی می‌باشد و افت مربوط به کیسه پلی‌اتیلن سالم مربوط به پوسیدگی می‌باشد. در طی دوره انبارداری در صورتی که تهویه هوا به‌خوبی صورت نگیرد سطح غده‌ها مرطوب می‌شود. وجود رطوبت در سطح غده‌های سیب‌زمینی در طول دوره انبارداری به‌عنوان یک علامت خطر محسوب می‌گردد. وجود رطوبت در سطح غده‌ها موجب شیوع، بیماری‌ها و در نهایت پوسیدگی غده‌ها خواهد شد (Hide and Boorer, 1991). در کیسه‌های پلی‌اتیلن سالم به دلیل اینکه امکان تهویه به راحتی وجود ندارد معمولاً سطح غده‌ها مرطوب می‌گردد که این امر موجب افزایش درصد پوسیدگی غده‌ها می‌گردد.

بین تیمارهای مختلف نگهداری از نظر درصد جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0/05$) مشاهده شد (جدول 1). بیشترین جوانه‌زنی غده‌ها در تیمارهای نگهداری سیب‌زمینی در کیسه‌های پلی‌اتیلن سالم و پانچ شده مشاهده شد، از طرف دیگر نگهداری غده‌ها در کیسه توری و جعبه چوبی کمترین درصد جوانه‌زنی رخ داد (شکل 3).

اختلاف بین بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی در نگهداری

جدول 1 - تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد مطالعه در روش‌های مختلف انبارداری سیب‌زمینی در سردخانه

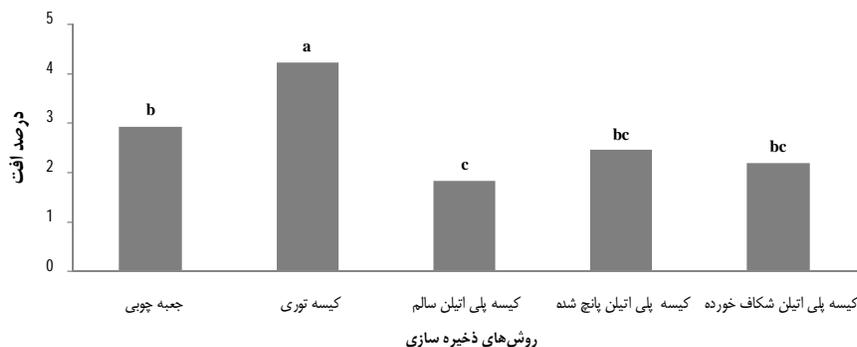
منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد افت	درصد غده‌های قابل استفاده	درصد غده‌های بدون جوانه	درصد جوانه زده	درصد پوسیده	وزن مخصوص	درصد ماده خشک	درصد قند	درصد نشاسته	فول	درصد برگه‌های قهوه‌ای	کیفیت چیس
روش ذخیره سازی	4	2/6**	3/3 ^{ns}	226/33**	185/28**	3/94**	-/0.1**	19/46**	0/0.1 ^{ns}	17/35**	-/0.3 ^{ns}	111/38**	13/07**
خطا	10												
کل	14												
ضریب تغییرات (%)	10/12	1/05		6/32	16/39	15/24	0/72	5/69	15/49	7/58	17/22	12/07	7/34

NS و ** به ترتیب غیر معنی‌دار در سطح احتمال 0.5 و معنی‌دار در سطح احتمال 0.1.

معرض رطوبت موجب شکستن خواب غده‌های سیب‌زمینی می‌گردد هرچند این رطوبت به چشم قابل مشاهده نباشد. در شرایطی که حرکت هوا در بین غده‌های سیب‌زمینی به سهولت انجام نگیرد تنفس و تخییر غده موجب ایجاد رطوبت در سطح غده‌ها می‌گردد که این امر موجب شروع فرآیندهای بعدی می‌گردد

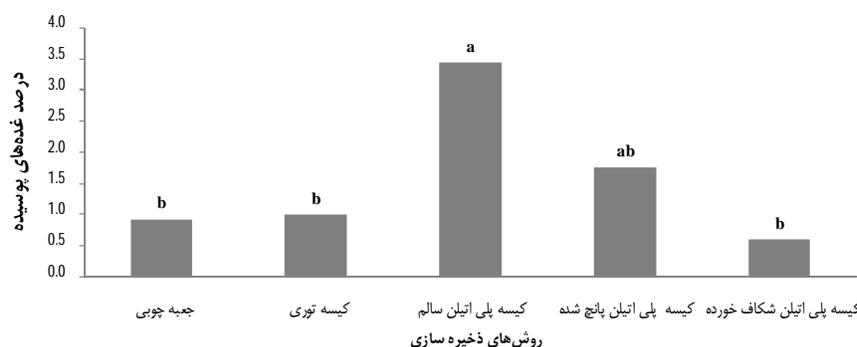
غده‌ها در کیسه پلی‌اتیلن پانچ شده و کیسه توری 16 درصد بود (شکل 3).

علاوه بر پوسیدگی ناشی از وجود رطوبت در سطح غده‌ها، جوانه‌زنی نیز یکی دیگر از اثرات وجود رطوبت در سطح غده‌ها در طی دوره انبارداری می‌باشد (Abbasi, 2012). قرار گرفتن غده‌ها در



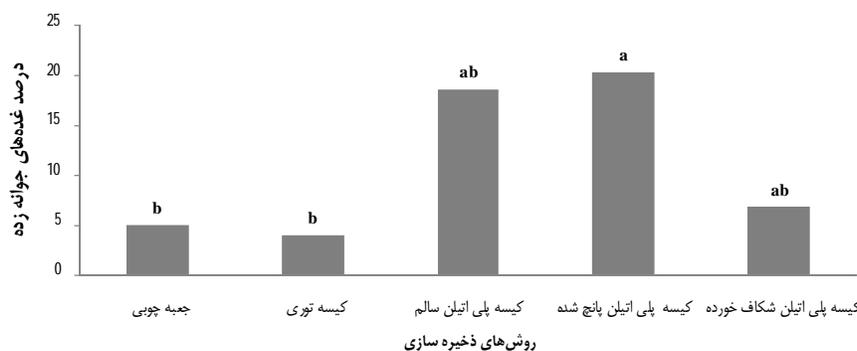
شکل 1- اثر روش‌های مختلف بسته‌بندی سیب‌زمینی بر درصد افت

(میانگین‌های دارای حروف مشترک به لحاظ آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند)



شکل 2- اثر روش‌های مختلف بسته‌بندی سیب‌زمینی بر درصد غده‌های پوسیده

(میانگین‌های دارای حروف مشترک به لحاظ آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند)



شکل 3- اثر روش‌های مختلف بسته‌بندی سیب‌زمینی بر درصد غده‌های جوانه‌زده

(میانگین‌های دارای حروف مشترک به لحاظ آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند)

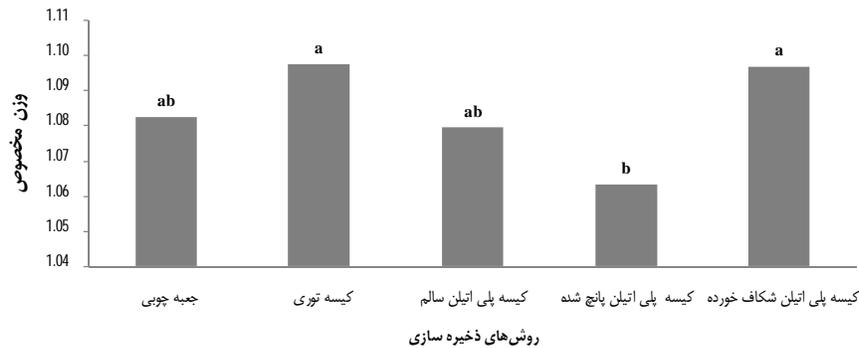
معنی‌دار آماری ($P \geq 0/05$) مشاهده نشد (جدول 1). با این وجود کمترین درصد غده‌های قابل استفاده در تیمار نگهداری سیب‌زمینی در کیسه پلی‌اتیلن سالم مشاهده شد که نسبت به نگهداری غده‌ها در

غده‌های قابل استفاده شامل غده‌های بدون جوانه و غده‌های جوانه‌زده می‌باشد. در این مطالعه بین تیمارهای مختلف نگهداری غده‌های سیب‌زمینی از نظر درصد غده‌های قابل استفاده اختلاف

جعبه چوبی سه درصد کمتر بود.

پلی اتیلن شکاف خورده مشاهده شد و کمترین وزن مخصوص در کیسه پنج شده به دست آمد (شکل 4). اختلاف بین بیشترین و کمترین وزن مخصوص غده دو درصد بود با این وجود در تمامی تیمارها وزن مخصوص غده بیشتر از یک بود (شکل 4).

اثر تیمارهای مختلف نگهداری غده‌های سیب‌زمینی بر وزن مخصوص آن‌ها پس از شش ماه نگهداری در دمای شش درجه سانتی‌گراد معنی‌دار ($P \leq 0/05$) بود (جدول 1). بیشترین وزن مخصوص غده در تیمارهای نگهداری در کیسه توری و کیسه



شکل 4- اثر روش‌های مختلف بسته‌بندی سیب‌زمینی بر وزن مخصوص غده (میانگین‌های دارای حروف مشترک به لحاظ آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند)

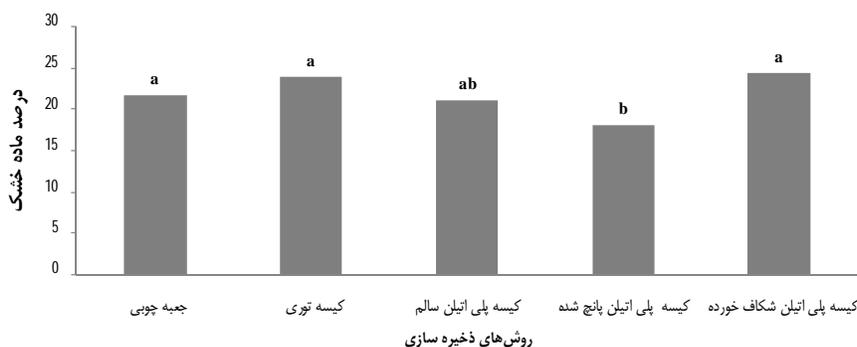
درصد قندهای احیاء به‌عنوان یکی از عوامل مهم تعیین‌کننده کیفیت پس از انبارداری سیب‌زمینی نشان داد که اختلاف معنی‌داری ($P \geq 0/05$) بین تیمارهای مختلف نگهداری وجود ندارد (جدول 1). با این حال نگهداری غده‌های سیب‌زمینی در کیسه‌های پلی‌اتیلن سالم کمترین و نگهداری در کیسه‌های توری بیشترین درصد قندهای احیاء را نشان داد (جدول 2). درصد قندهای احیاء مناسب برای فرآوری سیب‌زمینی در صنعت چیپس کمتر از 0/1 درصد است (Freitas, et al., 2012). گزارش شده است که مهم‌ترین عامل مؤثر در تغییر میزان قند در سیب‌زمینی دمای نگهداری است. حداقل میزان قندهای احیاء مانند ساکارز، فروکتوز و گلوکز در دمای 10 انبارداری درجه سانتی‌گراد در مقایسه با دمای 3/3 درجه سانتی‌گراد مشاهده شده است (Edwards et al., 2002). از دیگر عوامل مؤثر در میزان قند غده‌های سیب‌زمینی خواب غده (Fauconnier et al., 2002) و شیرین شدن در اثر پیری می‌باشد (Wiltshire and Cobb, 1996). در این مطالعه تمامی تیمارها درصد قند بالاتر از این استاندارد را دارا بودند که احتمالاً به دلیل دمای نگهداری است. با توجه به اینکه افزایش درصد قند در این مطالعه به دلیل شیرین شدن در اثر پیری نمی‌باشد، بنابراین برای مصرف این غده‌ها در تمامی تیمارها نگهداری آن‌ها به مدت دو هفته برای کاهش درصد قند ضروری است.

درصد نشاسته غده‌های سیب‌زمینی تحت تأثیر معنی‌دار ($P \leq 0/05$) تیمارهای مختلف نگهداری قرار گرفت (جدول 1). در میان تیمارهای نگهداری غده‌های سیب‌زمینی، نگهداری در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده و کیسه توری بیشترین و نگهداری غده در کیسه پلی‌اتیلن پانچ شده کمترین درصد نشاسته را نشان دادند (جدول

بررسی درصد ماده خشک غده‌های سیب‌زمینی پس از انبارداری حاکی از اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0/05$) بین روش‌های مختلف نگهداری بود (جدول 1). بیشترین درصد ماده خشک به‌طور مشترک در تیمار کیسه توری و کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده با 24 درصد و کمترین درصد ماده خشک در تیمار کیسه پلی‌اتیلن پانچ شده مشاهده شد (شکل 5). اختلاف بین کمترین و بیشترین درصد ماده خشک پس از انبارداری شش درصد بود (شکل 5).

وزن مخصوص و درصد ماده خشک غده‌های سیب‌زمینی از مهم‌ترین خصوصیات تعیین‌کننده در برداشت باکیفیت سیب‌زمینی است. در عمل این شاخص‌ها نشان دهنده‌ی بلوغ غده‌ها می‌باشد که در صنعت برای قضاوت در مورد کیفیت پخت و خصوصیات انبارداری از آن استفاده می‌شود. از همه مهم‌تر وزن مخصوص و درصد ماده خشک منعکس‌کننده عوامل محیطی و مدیریت زراعی تولید در طی فصل رشد می‌باشد (Gould, 1995). گزارش شده است که هر 0/005 افزایش وزن مخصوص تقریباً یک درصد عملکرد چیپس را افزایش می‌دهد (Gould, 1999). به‌طور کلی با افزایش زمان انبارداری سیب‌زمینی وزن مخصوص غده کاهش پیدا می‌کند (Ding, et al., 2002). هیدرولیز نشاسته با جوانه‌زنی تسریع می‌شود (Ding, et al., 2002) بنابراین در صورتی که جوانه‌زنی افزایش یابد با مصرف ذخایر غده وزن مخصوص و درصد ماده خشک نیز کاهش خواهند یافت. در این مطالعه درصد غده‌های جوانه‌زده در روش نگهداری غده در کیسه‌های پانچ شده بیشتر از سایر روش‌های نگهداری بود و به تبع آن کاهش وزن مخصوص و درصد ماده خشک نیز در این تیمار بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل 4 و 5).

2. اختلاف بین بیشترین و کمترین درصد نشاسته شش درصد بود (جدول 2).



شکل 5- اثر روش‌های مختلف بسته‌بندی سیب‌زمینی بر ماده خشک غده (میانگین‌های دارای حروف مشترک به لحاظ آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند)

جدول 2- اثر روش‌های مختلف نگهداری سیب‌زمینی بر درصد قند، درصد نشاسته، میزان فنول، درصد برگه‌های قهوه‌ای چپیس و کیفیت چپیس

روش‌های نگهداری	قند (%)	نشاسته (%)	فنول (میلی‌گرم در گرم ماده تر)	برگه‌های قهوه‌ای (%)	کیفیت چپیس
جمبه چوبی	0/14 ^a	15/42 ^a	0/20 ^a	12/20 ^{ab}	14/67 ^{ab}
کیسه توری	0/15 ^a	17/47 ^a	0/24 ^a	21/37 ^a	11/33 ^c
کیسه پلی‌اتیلن سالم	0/11 ^a	14/75 ^{ab}	0/22 ^a	8/93 ^b	15/00 ^{ab}
کیسه پلی‌اتیلن پانچ شده	0/12 ^a	11/91 ^b	0/22 ^a	11/53 ^b	12/67 ^{bc}
کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده	0/14 ^a	17/92 ^a	0/41 ^a	4/83 ^b	16/67 ^a

میانگین‌های دارای حروف مشترک به لحاظ آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

نشاسته از مهم‌ترین مواد مغذی کالری‌زای سیب‌زمینی است و حدود 70 تا 80 درصد از ماده خشک سیب‌زمینی را شامل شده و رابطه نزدیکی با وزن مخصوص و درصد ماده خشک آن دارد. دو جزء اصلی نشاسته شامل آمیلاز و آمیلوپکتین می‌باشند که نسبت آن‌ها یک به سه است (Salunkhe and Desai, 1984). قند تولید شده در برگ‌های سیب‌زمینی به بافت‌های در حال رشد منتقل شده توسط فعالیت پلیمراز آنزیم‌های سنتزکننده به نشاسته تبدیل می‌گردند (Fernie et al., 2002). گزارش‌ها نشان می‌دهد جوانه‌زنی سیب‌زمینی به مقدار زیادی وابسته به هیدرولیز نشاسته است که انرژی برای توسعه و رشد جوانه‌ها را فراهم می‌کند (Biemelt et al., 2000). در طی دوره انبارداری تبخیر، توزیع مجدد و تنفس، در غده‌های سیب‌زمینی ممکن است تحت تأثیر غلظت نشاسته قرار گیرد. هیدرولیز مولکول‌های نشاسته از طریق گلوکوامیلازها به قندهایی مانند ساکارز و قندهای احیاء تبدیل می‌شود (Marchal, 1999). فرآوری سیب‌زمینی و دیگر صنایع وابسته نیاز به آزمون در ارتباط با کیفیت نشاسته و محتوای ماده خشک غده‌های سیب‌زمینی دارد. با وجود اینکه هیدرولیز نشاسته انرژی کافی برای رشد و توسعه جوانه‌ها فراهم می‌آورد (Abbasi, 2012) اما برای فرآوری سیب‌زمینی مناسب نیست. در این مطالعه مشاهده شد که نگهداری غده‌ها در شرایطی که مانع از جوانه‌زنی شده بود مانند نگهداری

کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده و کیسه توری میزان نشاسته نیز بیشتر بود در مقابل درصد نشاسته در تیمارهایی که درصد جوانه‌زنی بیشتری دارا بودند همانند کیسه پلی‌اتیلن سالم و پانچ شده کمتر بود. از نظر میزان فنول بین تیمارهای مختلف نگهداری سیب‌زمینی اختلاف معنی‌داری ($P \geq 0/05$) مشاهده نشد (جدول 1). بررسی میانگین‌های میزان فنول کل در تیمارهای مختلف نشان داد تمامی تیمارها به جز نگهداری غده‌ها در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده دامنه‌ای نزدیک به هم داشتند اما این تیمار میزان فنولی حدود دو برابر سایر تیمارها داشت (جدول 2).

پلی‌فنول‌ها عموماً متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که عمدتاً فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ارتباط با اکسیداسیون چربی دارند (Kaur and Kapoor, 2002). در غده‌های سیب‌زمینی غلظت ترکیبات عمده فنولی شامل گالیک اسید، کلروژنیک اسید و کافئیک اسید می‌باشند (Niggeweg et al., 2004). معمولاً فنول کل غده‌های سیب‌زمینی در ابتدای دوره انبارداری بالاست و با افزایش زمان انبارداری روند کاهش دارد (Abbasi, 2012).

درصد برگه‌های چپیس قهوه‌ای در تیمارهای مختلف نگهداری غده‌های سیب‌زمینی اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0/05$) با هم داشتند (جدول 1). نگهداری غده در کیسه توری بیشترین و نگهداری غده در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده کمترین درصد برگه‌های قهوه‌ای چپیس

را دارا بودند (جدول 2). نگهداری در تیمارهای کیسه پلی‌اتیلن سالم، پلی‌اتیلن شکاف خورده و جعبه چوبی اختلاف معنی‌دار آماری ($P \geq 0/05$) با درصد برگه‌های قهوه‌ای چیپس در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده نداشتند. با این وجود به‌طور متوسط این تیمارها شش درصد برگه چیپس قهوه‌ای بیشتری نسبت به نگهداری غده در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده نشان دادند (جدول 2). قهوه‌ای شدن برگه‌های چیپس سیب‌زمینی معمولاً در اثر کاهش وزن مخصوص، درصد ماده خشک و میزان نشاسته (Ding, et al., 2002) و همچنین افزایش درصد قندهای احیاء غده اتفاق می‌افتد (Freitas, et al., 2012). در این مطالعه تیمار نگهداری غده در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده دارای وزن مخصوص، درصد ماده خشک و میزان نشاسته بیشتری نسبت به سایر تیمارها بود بنابراین به‌نظر می‌رسد برآیند این عوامل در کاهش درصد برگه‌های قهوه‌ای چیپس مؤثر بوده است. از طرف دیگر با توجه به اینکه اندازه‌گیری میزان فنول کل قبل از بلانچ (رنگ‌بری) انجام شده است به نظر می‌رسد فنول کل در طی فرایند بلانچ خارج شده است.

ارزیابی کیفیت چیپس (رنگ چیپس) به‌عنوان برآیند تمامی عوامل نگهداری سیب‌زمینی نشان داد که اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0/05$) بین روش‌های نگهداری سیب‌زمینی از این نظر وجود دارد (جدول 1). بر اساس نمره دهی انجام شده در این مطالعه کیسه پلی‌اتیلن سالم، کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده و جعبه چوبی دارای کیفیت مناسب برای مصرف در تولید چیپس روشن را داشتند و کیسه توری کمترین کیفیت چیپس در این مطالعه را دارا بود که قابل مصرف در تولید چیپس‌های رنگی بود (جدول 2).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی میزان افت در تیمار نگهداری غده در کیسه‌های پلی‌اتیلن سالم کمتر از سایر تیمارها بود اما درصد غده‌های پوسیده در این تیمار بیشتر از سایر تیمارها بود. در مقابل تیمار نگهداری غده در کیسه‌های پلی‌اتیلن شکاف خورده و پانچ شده درصد افتی معادل نگهداری در جعبه چوبی داشتند و درصد پوسیدگی در کیسه پلی‌اتیلن شکاف خورده کمتر از سایر تیمارها بود. کیفیت چیپس در تیمار نگهداری غده در کیسه‌های پلی‌اتیلن شکاف خورده بیشتر از سایر تیمارها و معادل نگهداری غده در جعبه چوبی بود. در نهایت با توجه به نتایج به دست آمده با توجه به محدودیت‌های موجود در سردخانه‌ها در نگهداری غده‌های سیب‌زمینی در جعبه‌های چوبی، ایجاد شکاف در کیسه‌های پلی‌اتیلن و یا ایجاد پانچ در کیسه‌ها برای کاهش درصد پوسیدگی و جوانه‌زنی غده‌های سیب‌زمینی می‌تواند راهکاری جایگزین برای ذخیره سیب‌زمینی در این شرایط باشد.

زمانی که پخت چیپس به اتمام می‌رسد برگه‌هایی قهوه‌ای جدا و رنگ بر اساس درصد برگه‌های باقی‌مانده تعیین می‌گردد. رنگ چیپس مهم‌ترین عامل کیفیت چیپس سیب‌زمینی در ارتباط با احساس مصرف‌کننده برای پذیرش محصول می‌باشد (Segnini et al., 1999). رنگ چیپس سیب‌زمینی نتیجه واکنش میلارد در ارتباط با حضور قندهای احیاء، پروتئین، دما و زمان پخت می‌باشد (Abbasi,

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از جناب آقای مهندس مرتضی خیامی مدیرعامل محترم شرکت صنایع غذایی به آرا که نهایت همکاری در اجرای این طرح را داشتند سپاسگزاری می‌نمایم.

منابع

- احمدوند، ر.، و حسن آبادی، ح.، 1385. ارزیابی مقاومت کلون‌های امیدبخش سیب زمینی در برابر بیماری‌های ویروسی. گزارش نهایی، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی نهال و بذر. 68 صفحه.
- Abbasi, K.S., 2012, Influence of packaging materials and storage conditions on the quality attributes of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. Ph.D Thesis. Arid Agriculture University, Rawalpindi Pakistan.
- Abong, G.O. Okoth, M.W., Karuri, E.G., Kabira, J.N., and Mathooko, F.M., 2009, Evaluation of selected Kenyan potato cultivars for processing into french fries. Journal of Animal and Plant Sciences, 2, 141-147.
- Biemelt, S., Hajirezaei, M., Hentschen, E., and Sonnewald, U., 2000, Comparative analysis of abscisic content and starch degradation during storage of tubers harvested of different potato varieties. Potato Research, 43, 371-382.
- Burton, W.G., 1948. The Potato. Chapman and Hall, London, 319 p.
- Butchbaker, A.F. Promersberger, W.J., and Nelson, D.C., 1973, Respiration and Losses of Weight Potatoes during Storage. Farm Research.

- Das, M., Ezekiel, R., Pandey, S.K., and Singh, A.N., 2004, Storage behaviour of potato varieties and advanced cultures at room temperature in Bihar. *Potato Journal*, 31(1/2), 71–75.
- Ding, C.K., Chachin, Y., Ueda, Y., Imahori, Y., and Wang, C.Y., 2002, Modified atmosphere packaging maintains postharvest quality of loquat fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 24, 341-348.
- Fernie, A.R., Willmitzer, L., and Trethewey, R.N., 2002, A review: Sucrose to starch: a transition in molecular plant physiology. *Trends Plant Science*, 7, 35-41
- Freitas, S.T., Pereira, E.I.P., Gomez, A.C.S., Brackmann, A., Nicoloco, F., and Bisognin, D.A., 2012, Processing quality of potato tubers produced during autumn and spring and stored at different temperatures. *Horticultura Brasileira*, 30, 91-98.
- Friedman, M., 2006, Potato glycoalkaloids and metabolites: roles in the plant and in the diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 8655–8681.
- George, O.A., Okoth, M.W., Imungi, J.K. and Kabira, J.N., 2010, Evaluation of selected Kenyan potato cultivars for processing into potatocrisps. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1, 886-893.
- Gould, W., 1995, Specific gravity its measurement and use. *Chipping Potato Handbook*, pp. 18-21.
- Gould, W.A., 1999, *Potato production, processing, and technology*. CTI Publications, Baltimore, M.D
- Gupta, V.K., Luthra, S.K., and Singh, B.P., 2014, Storage behaviour and cooking quality of Indian potato varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (8), 4863-4873.
- Hartmans, K.J., Diepenhorst, P., Bakker, W., and Gorris, L.G.M., 1995, the use of carvone in agriculture - sprout suppression of potatoes and antifungal activity against potato-tuber and other plant-diseases. *Industrial Crops Products*, 4, 3-13.
- Hide, G.A. and Boorer, K.J., 1991, Effects of drying potatoes (*Solanum tuberosum* L.) after harvest on the incidence of disease after storage. *Potato Research*, 34, 133-137.
- Kadam, S.S., Wankier, B.N., and Adsule, N.R., 1991, *Potato production, processing and products*. Boca Raton: CRC's Press. 35 p.
- Kaur, C., and Kapoor, H.C., 2002, Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science & Technology*, 37, 153–161.
- Kawchuk, L.M., Lynch, D.R., Yada, R.Y., Bizimungu, B., and Lynn, J., 2008, Marker assisted selection of potato clones that process with light chip color. *American Journal of Potato Research*, 85, 227-231.
- Khan, W.A., Duncan, H.J., Baloch, A.K., and McGowan, G., 2012, Methodology development for routine estimation of chlorophyll in commercial potato stores. *Czech Journal of Food Sciences*, 30, 67–73
- Kittur, F.S., Kumar, K.R., and Tharanathan, R.N., 1998, Functional Packaging Properties of Chitosan Films. *European Food Research and Technology*, 44, 206–208.
- Kleinkopf, G.E., Oberg, N.A., and Olsen, N.L., 2003, Sprout inhibition in storage: current status, new chemistries and natural compounds. *American Journal of Potato Research*, 80, 317-27.
- Kumar, R., Pandey, S.K., and Khurana, S.M.P., 2005, keeping quality of potato processing varieties during room temperature storage. *Potato Journal*, 32 (1–2), 55–59.
- Kyriacou, M.C., Gerasopoulos, D., Siomos, A.S., and Ioannides, I.M., 2008, Impact of hot water treatment on sprouting, membrane permeability, sugar content and chip colour of reconditioned potato tubers following long-term cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2682–2687.
- Kyriacou, M.C., Ioannides, I.M., Gerasopoulos, D., and Siomos, A.S., 2009, Storage profile and processing potential of four potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars under these storage temperature regimes. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7, 31-37.
- Marchal, L., 1999, *towards a rational design of commercial maltodextrins a mechanistic approach*. Deuchland: Tramer and Bergsma Eds.
- Mehta, A., Singh, S.V., Pandey, S.K., and Ezekiel, R., 2006, Storage behaviour of newly released potato cultivars under non-refrigerated storage. *Potato Journal*, 33(3/4), 158–161.
- Ministry of Agriculture (MoA), 2005, *Potato Standards In: The Crop Production and Livestock Act*. Kenya Gazette supplements no.38, Nairobi.
- Ministry of Agriculture (MoA), 2007, *Challenges in potato research*. In: *The National Policy on Potato Industry*, Presentation during the potato stakeholders meeting at KARI head quarters, Nairobi, Kenya.
- Mottram, D.S., Wedzicha, B.L., and Dodson, A.T., 2002, Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419, 448-449.
- Niggeweg, R., Michael, A.J., and Martin, C., 2004, engineering plants with increased level of the antioxidant chlorogenic acid. *Nature Biotechnology*, 22, 746-754.
- Pande, P.C., and Luthra, S.K., 2003, Performance and storability of advanced potato hybrids in west central plains. *Journal Indian Potato Association*, 30, 21–22.
- Pedreschi, F., Moyano, P., Kaack, K., and Granby, K., 2005, Color changes and acrylamide formation in fried potato slices. *Food Research International* 38, 1-9.
- Rommens, C.M., Shakya, R., Heap, M., and Fessenden, K., 2010, Tastier and healthier alternatives to French Fries.

- Journal of Food Science. 75, 109-115.
- Ross, A.F., 1959, Dinitrophenol methods for reducing sugars. In: TALBURST WF; SMITH O (Eds). Potato Processing: Connecticut. Avi Publishing Company. p. 467-470.
- Salunkhe, D.K., and Desai, B.B., 1984, Post Harvest Biotechnology of Vegetables. 2nd ed., CRC Press. Boca Raton, Florida, US, pp. 55-82.
- Samotus, B., Kolodziej, Z., Niedzwiedz, M., Leja, M., and Czajkowska, B., 1973, some aspects of total losses during storage and reconditioning of potato tubers. Potato Research, 16, 61-67
- Saraiva, J.A., and Rodrigues, I.M., 2011, Inhibition of tuber sprouting by pressure treatments. International Journal of Food Science and Technology, 46, 61-66.
- Segnini, P., Dejmeek, P., and Oste, R., 1999, A low cost video technique for colour measurement of potato chips. Swiss Society of Food Science and Technology, 32, 216-222.
- Singleton, U.L., and Rossi, J., 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. American Journal of Enology and Viticulture, 16,144.
- Sowokinos, J.R., 1990, Stress induced alteration in carbohydrate metabolism. *In: The Molecular and Cellular Biol. Potato*, M E Vayda and W D Park (Eds.) Wallingford, UK: CAB International. pp. 137-158.
- Stadler, R.H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P.A., Robert M.C., and Riediker, S., 2002, Acrylamide from Maillard reaction products. Nature, 419, 449-450.
- Suttle, J.C., 2007, Dormancy and sprouting. *In: Potato biology and biotechnology*, Vreugdenhil, D. & Bradshaw, J. (Eds.). Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Wang-Pruski, G., and Nowak, J., 2004, Potato after-cooking darkening. American Journal of Potato Research, 81, 7-16.

Effect of different storage methods on quantity and quality of potato

J. Nabati^{*1}, F. Izadi², R. Abbasi³, F. Hassani⁴

Received: 2016.07.21

Accepted: 2017.02.15

Introduction: Potato (*Solanum tuberosum*) belongs to Solanaceae family and is a perennial plant which is herbaceous in nature. Potato is the world's number one non-grain food commodity and 75% of the total production are being harvested in densely populated developing countries such as China and India, and thus alleviates the food crisis in third world countries. Potato is the most imperative and widely cultivated vegetable crop in Iran, per capita consumption in the country is more than 35 kg. Potatoes are the World's most widely grown tubular crop and the fourth largest crop in terms of fresh produce after rice, wheat and maize. According to the National Policy on Potato Industry, the potato is an important food and cash crop that plays a major role in food security and is only second to maize in terms of utilization. Potato production is increasing due to the economic decline of competing cash crops such as maize, pyrethrum, and barley, and increasing demand from consumers and processors. Potato tuber undergoes physiological dormancy period during the postharvest storage. The length of the dormancy period is dependent on the varietal genetic profile, environmental factors and storage conditions. Commercial potato cultivars grown for the processing industry has shorter dormancy periods and associated with different storage disorders like sweetening, greening, toxicants, etc.; therefore it is vitally important to employ suitable storage conditions to ensure their continuous supply. Potato is semi perishable crop, however placed under low temperature storage to prevent them from sprouting and to ensure their regular supply whenever required. Low temperature potato storage is however, associated with low temperature sweetening and is specifically undesirable in processing potato varieties. The phenomenon is primarily associated with the potato storage under low temperature and as a result of which the insoluble starch is enzymatically hydrolyzed into soluble glucose, fructose and sucrose. Tuber sweetening deteriorates the tuber commercial quality and causes the fried products to turn brown and bitter in taste due to subsequent acrylamide formation. Packaging is an essential component of post harvest supply chain management in horticultural crops. In Iran and other developing countries, potatoes stored in polyethylene bags with a capacity of 40 to 80 kg that causes many problems during storage. Therefore, this study was conducted to evaluate the different potato packing methods for industry uses.

Material and Methods: Study was conducted in 2015-2016 at cold storage Ravand, in the Toos Industrial Zone, Mashhad, Iran in a completely randomized design with triplicate. Treatments including cold storage of potatoes, storage in a wooden box, kept in mesh bags, storage in polyethylene bags, and storage in punched polyethylene bags and kept in split polyethylene bags. Potato cultivar used in this study was Agria Picked up in the second half of October. Box weight was measured before storing tubers. Tuber store below six degrees Celsius and relative humidity between 85% and 90% were considered for all treatments. The amount of carbon dioxide during storage was set between 700 and 1000 ppm. Storage period took six months. After storage period, the number of healthy, sprouting and rotting tubers were counted and the sugar content, total phenol content and quality of chips, starch content, dry matter and tuber specific gravity were measured.

Results & Discussion: The results showed that the highest and the lowest loss percentage observed in mesh bags and polyethylene bags respectively. The difference between the two treatments was 2.4 percent. Tuber maintenance in polyethylene bags and polyethylene bag split showed the highest and lowest percentage of decay. Most sprouting tuber was observed in polyethylene bags and punched polyethylene bags, and the lowest sprouting tuber observed in a mesh bag and wooden box. The difference between the highest and lowest percentage of sprouting tuber in punched polyethylene bags and mesh bag was 16 percent. There were no significant differences observed in reducing sugars and total phenol component at different storage methods. The

1. Member of staff Ferdowsi University of Mashhad, Research Center for Plant Sciences
 2. Plan Manager of Behara Food Industry
 3. Manager of Agronomic Affairs, Behara Food Industry
 4. Agronomy Expert, Behara Food Industry
- (*Corresponding Author Email: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir)

highest percentage of starch obtained in split polyethylene bags and mesh bag and the least amount of starch in punched polyethylene bags. Packing tubers in mesh bag showed the maximum and in split polyethylene bags showed the minimum brown color in chips. The difference between the highest and lowest specific gravity was two percent, however, in all treatments specific gravity was more than one. The highest of dry matter percentage observed in a mesh bag and split polyethylene bags with 24 percent and the lowest of dry matter percentage was observed in punched polyethylene bags. Tuber loss weight in polyethylene bags was lower than other treatments, but rotten tubers percentage was higher than the other treatments. In contrast, tuber weight loss in split polyethylene and punched bag's was equal to storage in wooden boxes and tuber decay in split polyethylene bags was lower than other treatments. Chips quality in split polyethylene bags was more than other treatments and equal to wooden boxes. Generally, wooden boxes, split polyethylene bags and punching bags are found suitable to reduce the percentage of rot and sprouting potato tubers and as effective way to store potatoes in storage room.

Keywords: Chips, cold storage, decay, packaging, storage

اثر افزودن فیبرهای خوراکی گندم و جودوسر بر کیفیت و جلوگیری از تغییر شکل میگوی تقلیدی حین فرآیند سرخ کردن عمیق

سکینه حیدری¹ - بهاره شعبانپور^{2*} - پرستو پورعاشوری³

تاریخ دریافت: 1395/06/23

تاریخ پذیرش: 1396/04/03

چکیده

یکی از مهم‌ترین عوامل موثر در تهیه محصولات سوخاری، فرآیند سرخ کردن می‌باشد. سرخ کردن عمیق با حرکت توده آبی جدا شده از درون فرآورده به سمت خارج می‌تواند موجب تغییر شکل و شکستگی پوسته محصولات سوخاری گردد از این رو مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر افزودن فیبرهای خوراکی گندم و جودوسر بر کیفیت و جلوگیری از تغییر شکل فرآورده تقلیدی میگو، به‌عنوان یک محصول با ارزش افزوده تهیه شده از سوریمی، در طی سرخ عمیق، انجام شد. میگوهای تقلیدی از سوریمی ماهی فیتوفاگ به روش ترکیبی - قالبی با تهیه رشته از سوریمی، در پنج تیمار شامل یک تیمار فاقد فیبر و چهار تیمار دیگر دارای 5 و 6 درصد فیبر جودوسر و گندم تهیه، پوشش‌دهی، پیش سرخ و منجمد گردیدند. به‌منظور انجام آزمایشات، میگوهای تقلیدی انجام‌زدایی شده و به‌صورت نهایی سرخ شدند. ارزیابی‌ها نشان داد که بیشترین میزان رطوبت و کمترین میزان چربی در تیمارهای حاوی 6 درصد فیبر گندم به ترتیب 49/06 و 5/51 و فیبر جودوسر به ترتیب 49/56 و 6/47 مشاهده شدند ($p < 0/05$). تیمار 6 درصد فیبر جودوسر فاقد پروتئیدی (0%) و بیشترین درصد پروتئیدی در تیمار شاهد مشاهده گردید ($p < 0/05$). ویژگی‌های بافتی محصول مانند سختی، خاصیت چسبندگی، حالت جویدنی و خاصیت ارتجاعی با افزودن فیبر نسبت به شاهد افزایش یافت؛ اما این ویژگی‌ها در نمونه حاوی فیبر جودوسر در مقابل گندم افزایش بیشتری داشت ($p < 0/05$). از نظر ارزیابی حسی تفاوتی در بین تیمارها مشاهده نشد ($p < 0/05$). نتایج بر تاثیر استفاده از فیبرها در جذب رطوبت و جلوگیری از تغییر شکل فرآورده‌های تولیدی دلالت داشت و افزودن فیبر جودوسر 6 درصد در مقایسه با فیبر گندم بر خواص بافتی و تغییر شکل ناشی از سرخ شدن اثر مطلوب‌تری داشت و به‌عنوان تیمار بهینه ارزیابی گردید.

واژه‌های کلیدی: خواص بافتی و فیزیکی، فیبر خوراکی، میگو تقلیدی

مقدمه

چرخ‌شده به‌منظور حذف خون، لیپیدها، آنزیم‌ها و پروتئین‌های سارکوپلاسمیک تهیه می‌شود (Tahergorabi et al., 2012) و ماده خام بالقوه‌ای برای تهیه محصولات متنوع است که به دلیل خواص بافتی منحصر به فرد و همچنین ارزش غذایی بالا شهرت یافته است (Remya et al., 2015). میگوی تقلیدی⁵ شبیه میگوی واقعی است که از سوریمی به اضافه مواد مناسب دیگر به‌منظور اصلاح طعم و بافت تهیه شده است (Remya et al., 2015) و پس از شکل‌دهی (به شکل میگو)، آن را بسته‌بندی و تحت فرآیند حرارتی قرار می‌دهند. یکی از مهم‌ترین عواملی که در تهیه محصولات سوخاری و لعاب‌دهی شده اثرگذار است، فرآیند حرارت‌دهی محصول می‌باشد. در ابتدای فرآیند حرارت‌دهی، گرمای زیاد موجب می‌شود تا آب موجود در نزدیک سطح ماده غذایی به بخار تبدیل شده و از ماده غذایی خارج گردد. ادامه این پدیده موجب می‌شود تا آب موجود در قسمت‌های

نرم‌تنان و سخت‌پوستان فرآورده‌های غذایی دریایی هستند که به دلیل طعم منحصر به فرد از مطلوبیت زیادی نزد مصرف‌کنندگان برخوردارند. اخیراً غذاهای دریایی مشابه‌سازی شده که به‌عنوان فرآورده‌های تقلیدی شناخته می‌شوند به دلیل ارزانی محبوبیت زیادی کسب کرده‌اند (Remya et al., 2015). فرآورده‌های تقلیدی از منابع کم‌هزینه از جمله سوریمی⁴ تولید می‌شوند و به تقلید از مواد غذایی گران و لوکس طراحی شده‌اند. سوریمی به پروتئین‌های میوفیبریل مخلوط با محافظ سرمایی اطلاق می‌شود و از طریق شستشوی ماهی

1، 2 و 3 - به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و استادیار، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

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

DOI: 10.22067/ifstrj.v1396i0.58850

4 surimi

تکنیک‌هایی که به منظور افزایش کیفیت و جلوگیری از تغییر شکل میگو تقلیدی پیشنهاد می‌شود، افزودن فیبرهای خوراکی است که موجب افزایش جذب آب و کاهش جذب روغن توسط محصول می‌شود و از تغییر شکل محصول تحت تاثیر فرایند سرخ شدن جلوگیری می‌کند.

از آنجاییکه استفاده از فیبرهای رژیمی در سطوح مختلف اثرات بافتی متفاوتی دارند و به دلیل نو بودن استفاده از فیبر در محصول میگوی تقلیدی، هدف از این تحقیق بررسی افزودن فیبرهای خوراکی بر کیفیت و جلوگیری از تغییر شکل فرآورده تقلیدی میگو حاصل از سوریمی ماهی فیتوفاگ در طی سرخ کردن عمیق می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهی کپورنقره‌ای به مقدار 10 کیلوگرم در پاییز سال 1394 با وزن تقریبی 100 ± 1200 گرم و متوسط طول 5 ± 45 سانتی‌متر از بازار ماهی گرگان خریداری و بلافاصله پوست کنی، فیله و شستشو شد و همراه با یخ به آزمایشگاه فرآوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال یافت. پس از استخوان‌گیری، جداسازی گوشت قرمز از فیله و شستشو، فیله ماهی با استفاده از چرخ گوشت خانگی مدل (Bosch, Germany) با قطر سوراخ‌های 5 میلی‌متر، چرخ شد. سوریمی با روش Hema و همکاران (2015) با کمی تغییرات تهیه شد. گوشت چرخ شده ماهی با آب 4 درجه‌سانتی‌گراد به نسبت 1:3 (آب:گوشت چرخ شده) مخلوط شد. این مخلوط به مدت 5 دقیقه توسط قاشق همزده شد و پس از 5 دقیقه همزدن، توسط تور تنظیف با فشار دادن دستی آبیگری صورت گرفت. این عمل سه بار تکرار شد و در آخرین مرحله به آب مورد استفاده در شستشو 0/3 درصد نمک جهت آبیگری بهتر اضافه شد.

تهیه میگوی تقلیدی

نیمی از سوریمی انجمادزدایی شده در دستگاه غذاساز (سایا، ایران) با سرعت کم در مدت 6 دقیقه خرد و مخلوط شد و بعد از 1 دقیقه اول 2% نمک به آن اضافه شد. سپس فیبرهای خوراکی جودوسر و گندم (فیبرگندم محتوای 94/6% فیبر، رطوبت کمتر از 7/5%، چربی کمتر از 0/1% و پروتئین کمتر از 0/4%؛ فیبر جودوسر محتوای 90% فیبر، رطوبت کمتر از 6/5%، چربی کمتر از 0/1% و پروتئین 0/4% و هر دو فیبر با طول 250 میکرومتر از شرکت دانش‌آوران فاتح خریداری گردید) به میزان 5 و 6 درصد به خمیر اضافه و مخلوط گردید. خمیر تولیدی در پوشش‌های پلاستیکی با قطر 2/5 سانتی‌متر قرار گرفت و به‌منظور انعقاد به حمام آبی (Memmert GmbH Type WNB14, Germany) انتقال یافت (Remya et al., 2015). در ابتدا در حمام آبی با دمای 35

مرکزی ماده غذایی به دلیل فشار داخلی از طریق کانال‌های موجود در ماده غذایی به سمت قسمت‌های سطحی شود. در نتیجه رطوبت بخش‌های داخلی ماده غذایی، میزان خروج بخار آب کاهش می‌یابد. بنابراین روغن به ماده غذایی چسبیده و متناسب با مقدار آبی که ماده غذایی از دست داده، وارد منافذ ریز و درشت موجود در ماده غذایی می‌شود (Saguy & Pinthus, 1995; Mellema, 2003; Debnath et al., 2003). بنابراین بین میزان رطوبت و جذب روغن رابطه معکوس وجود دارد، به طوری که هر چه میزان رطوبت ماده غذایی در پایان فرایند سرخ کردن بالاتر باشد، محصول نهایی حاوی روغن کمتری خواهد بود (Mellema, 2003; Akdeniz et al., 2006). در فرآورده‌های سوخاری نیز در طی سرخ کردن عمیق، آب از لایه‌های زیرین تبخیر و به سطح محصول می‌رسد و از فرایند تبخیر توسط پوسته سوخاری محصول جلوگیری می‌شود، اما در طی فرایند به دلیل انباشت بخار پوسته سوخاری ترک برمی‌دارد و کانال‌هایی ایجاد می‌شود که روغن وارد و آب از محصول خارج می‌شود (Lalam et al., 2013). Ježek و همکاران (2009) بیان کردند که علاوه بر اثر زمان سرخ کردن در ایجاد تخلخل و جذب روغن، ترکیب مواد تشکیل‌دهنده، در جذب روغن و کاهش تخلخل موثر است. در این مطالعه با افزودن نشاسته برنج، پکتین و فیبر چغندر قند در درصد‌های مختلف به گوشت مرغ پوشش داده شده و سرخ‌شده در زمان‌های مختلف، جذب روغن کاهش یافت. Sharma و Talukder (2010) بیان کردند که افزودن 10 تا 15 درصد آرد گندم و جودوسر به کلوچه‌های مرغ¹ کبابی و بخارپز شده مناسب و در کاهش جذب روغن در محصول موثر می‌باشد.

یکی از افزودنی‌هایی که در طراحی برخی مواد غذایی استفاده می‌شوند، فیبرهای خوراکی هستند. فیبرخوراکی بخش خوراکی گیاهان یا کربوهیدرات‌های مشابه و نیز بخش خوراکی جانوران (مانند کیتوزان) که به هضم و جذب در روده کوچک انسان مقاوم بوده و به‌طور کامل یا جزئی در روده بزرگ تخمیر می‌شوند (Debusca et al., 2014). فیبرهای خوراکی شامل پلی‌ساکاریدها، الیگوساکاریدها، لیگنین و ترکیبات گیاهی مرتبط با سلامت انسان هستند (Debusca et al., 2014). از دیگر اثرات مصرف فیبر در رژیم غذایی کاهش بیماری‌های قلبی، دیابت، چاقی و برخی از سرطان‌ها است (Tosh & Yada et al., 2010). فیبر خوراکی همچنین می‌تواند موجب بهبود برخی خواص عملکردی مثل افزایش ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت نگهداری روغن، امولسیون‌سازی، تشکیل ژل، تغییر خواص بافتی، جلوگیری از سینرسیس (جدایی مایع از یک ژل ناشی از انقباض)، ثبات مواد غذایی پرچرب و امولسیون و بهبود مدت ماندگاری در مواد غذایی می‌شود (Elleuche et al., 2014). بنابراین یکی از

اندازه‌گیری ترکیب تقریبی

پروتئین خام به روش کلدال با استفاده از دستگاه هضم و تقطیر کلدال (Gerhardt, type VAP.40 Germany) (AOAC, 1990). چربی خام با استفاده از پترولیوم اتر و دستگاه سوکسله (Gerhardt, type SE-416, Germany) (پروانه، 1377)، رطوبت با استفاده از دستگاه آون (Binder, USA) در دمای 105°C به مدت 24 ساعت (پروانه، 1377) و خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی (Nabertherm, Germany) در دمای 550°C به مدت 8 ساعت (AOAC, 1990) اندازه‌گیری شدند.

pH

5 گرم از نمونه در 45 میلی‌لیتر آب مقطر هم‌زده و یکنواخت شده سپس با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتالی (728 Lat Stirrer Metrohm)، در دمای اتاق pH نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (Das et al., 2008).

بازده محصول

نمونه هر تیمار قبل و بعد از سرخ کردن نهایی توزین شد. مقدار بازده محصول طبق فرمول زیر به صورت درصد محاسبه گردید (Das et al., 2008).

$$(1) \quad 100 \times (\text{وزن نمونه سرخ شده مقدماتی} / \text{وزن نمونه سرخ شده نهایی}) = \text{بازده محصول (درصد)}$$

درصد جذب لعاب

این آزمایش به منظور مشخص کردن مقدار لعاب چسبیده شده به سطح نمونه‌ها انجام می‌گردد. نمونه هر تیمار انجمادزایی شده، جداگانه وزن می‌شود، سپس آردزنی اولیه، لعاب‌دهی شده و مجدداً وزن می‌شود. درصد جذب لعاب طبق فرمول زیر محاسبه می‌گردد (chen et al., 2008).

$$(2) \quad 100 \times \left[\frac{\text{وزن نمونه لعاب‌دهی شده}}{\text{وزن نمونه فاقد لعاب}} - 1 \right] = \text{درصد جذب لعاب (درصد)}$$

چروکیدگی

قطر و ضخامت نمونه‌های هر تیمار قبل و بعد از سرخ کردن نهایی اندازه‌گیری شد و به کمک فرمول زیر مقدار چروکیدگی محاسبه گردید (Modi et al., 2007).

$$(3) \quad \text{چروکیدگی (درصد)} = \left[\frac{\text{ضخامت نمونه سرخ شده مقدماتی} - \text{ضخامت نمونه سرخ شده نهایی}}{\text{قطر نمونه سرخ شده مقدماتی}} \right] + \left[\frac{\text{قطر نمونه سرخ شده مقدماتی} - \text{قطر نمونه سرخ شده نهایی}}{\text{قطر نمونه سرخ شده مقدماتی}} \right]$$

درجه‌سانتی‌گراد به مدت 1 ساعت و سپس به حمام آب 90 درجه‌سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه قرار گرفت (زمانی‌نژاد و همکاران، 1394). سپس تیمارهای تولیدی سرد شده و با چاقوی استیل تیز رشته شدند (Remya et al., 2015).

نیم دیگر سوریمی به پنج قسمت تقسیم و هر قسمت جداگانه به مدت 1 دقیقه در دستگاه غذاساز مخلوط گردید و سپس 2% نمک اضافه شد و عمل مخلوط کردن 1 دقیقه دیگر ادامه یافت و متعاقباً سدیم‌تری‌پلی‌فسفات به میزان 0/2%، 1% شکر، 2/5% روغن و 2% طعم میگو (به صورت گوشت خرد شده میگو) اضافه و مخلوط شد (Remya et al., 2015). سپس فیبر جودوسر¹ و فیبر گندم² در مقادیر 5 و 6 درصد به هر تیمار اضافه شد. نمونه شاهد فاقد فیبر بود. هر یک از نمونه‌ها به خوبی به مدت 2 دقیقه هم‌زده شد و خمیر هر تیمار به نسبت 1:1 با رشته‌ها مخلوط شدند سپس خمیر هر تیمار در قالب‌های جداگانه پهن شد (Remya et al., 2015) و به منظور انعقاد به حمام آب 35 درجه‌سانتی‌گراد برای 1 ساعت و سپس به حمام آب 90 درجه‌سانتی‌گراد برای 20 دقیقه منتقل شد. سپس سرد و به شکل میگو قالب زده شدند.

میگوی تقلیدی لعاب‌دهی و سوخاری شده

میگوهای تقلیدی آردزنی اولیه شده، در لعاب غوطه‌ور گردیدند. تهیه لعاب به روش Chen و همکاران (2008) با کمی تغییر انجام گرفت. پس از یک دقیقه و چکیدن لعاب اضافی، توسط آرد سوخاری پوشش داده شدند. پس از کامل شدن روکش، میگوهای تقلیدی با استفاده از روغن گیاهی در سرخ‌کن (Moulinex Toucan ADR2) به مدت 30 ثانیه تحت دمای 180 درجه‌سانتی‌گراد به صورت مقدماتی به روش سرخ کردن عمیق سرخ شدند و پس از خنک شدن در دمای محیط، هر تیمار جداگانه درون بسته‌های زیپ‌کیپ بسته‌بندی شده و در فریزر 20- (هیمالیا F305، ایران) درجه‌سانتی‌گراد منجمد گردید. پس از گذشت یک روز از انجماد به منظور سرخ کردن مجدد، میگوهای تقلیدی به مدت یک شب در یخچال (4°C) انجمادزایی (Sanjua's-Rey et al., 2012) شدند و در سرخ‌کن به مدت سه دقیقه تحت دمای 180 درجه‌سانتی‌گراد به روش سرخ کردن عمیق سرخ شده و تحت آزمایشات به شرح زیر جهت ارزیابی کیفی و تعیین اثرات افزودن فیبرهای خوراکی قرار گرفتند: تعیین ترکیب تقریبی متشکله (رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر)، pH، بازده محصول، درصد جذب لعاب، چروکیدگی، رطوبت تحت فشار، بافت‌سنجی، رنگ‌سنجی و ارزیابی حسی انجام شد.

1 Oat fiber

2 wheat fiber

سخامت نمونه سرخ شده مقدماتی) $\times 100$

رطوبت تحت فشار

با توجه به روش Benjakul و همکاران (2001) اندازه‌گیری شد. یک نمونه با ابعاد $(1 \times 1 \text{ cm}^2)$ از مرکز یک نمونه نیمه منجمد جدا شده و دقیقاً وزن شد (W_1)، نمونه در دمای اتاق تا 20 درجه سانتی‌گراد گرم شد و بین دو کاغذ صافی واتمن شماره 41 قرار گرفت و بالا و پایین کاغذ صافی دو عدد تخته مسطح قرار گرفت. یک وزنه استاندارد مجموعاً یک کیلوگرمی به مدت 2 دقیقه روی آن قرار داده شد، سپس نمونه به دقت وزن شد (W_2)، و طبق فرمول زیر رطوبت تحت فشار محاسبه گردید:

$$(4) \quad 100 \times \frac{\text{وزن اولیه}}{\text{وزن ثانویه}} - \text{وزن اولیه} = \text{رطوبت تحت فشار}$$

بافت‌سنجی

یک نمونه با طول 25 میلی‌متر تهیه گردید. سختی، خاصیت ارتجاعی، نیروی چسبندگی، بهم پیوستگی، حالت جویدنی، خاصیت چسبندگی با استفاده از دستگاه بافت‌سنج Brook field مدل LFRA 4500 با سلول بار 4/5 کیلوگرم مجهز به پروب سیلندری با قطر 50/8 میلی‌متر و سرعت 1 میلی‌متر بر ثانیه با 50% تغییر شکل فشاری اندازه‌گیری شد (Jafarpour & Gorczyca, 2008).

رنگ‌سنجی

رنگ نمونه‌ها توسط دستگاه رنگ‌سنج (Lovibond CAM-system, England 500) مورد آنالیز قرار گرفت. متغیر L^* برای بیان شاخص روشنایی گوشت از صفر (بعد سیاهی) تا 100 (بعد سفیدی)، شاخص a^* برای بیان بعد قرمزی-سبزی ($+a^*$ نشان‌دهنده قرمزتر و $-a^*$ نشان‌دهنده سبزتر) و شاخص b^* برای بیان بعد زرد-آبی ($+b^*$ نشان‌دهنده زردتر و $-b^*$ نشان‌دهنده آبی‌تر) می‌باشد و فاکتور سفیدی به طریق زیر محاسبه گردید (Lou et al., 2004).

$$(5) \quad \text{سفیدی} = 100 - [(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

ارزیابی حسی

به منظور ارزیابی شاخص‌های حسی مانند رنگ، بافت، تردی، طعم، ظاهر و پذیرش کلی نمونه‌ها از مقیاس توصیفی هشت نقطه‌ای استفاده شد (Das et al., 2008). میگوهای تقلیدی در دمای 180 درجه سانتی‌گراد به مدت 3 دقیقه سرخ شدند و توسط هفت نفر از دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابان به شاخص‌های حسی از یک تا هشت امتیاز دادند (بی‌نهایت بد: 1، بی‌نهایت عالی: 8).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن 16 با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام شد و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال $\alpha = 0/05$ انجام گرفت.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی و pH میگوی تقلیدی

با توجه به نتایج به‌دست آمده از جدول 1 با افزایش سطح فیبر درصد رطوبت افزایش یافت ($p < 0/05$). چربی در تیمارهای مختلف میگوی تقلیدی، با افزایش سطح فیبر در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یافت ($p < 0/05$). فرآورده‌های سوخاری به دلیل فرایند سرخ شدن در روغن و جذب روغن، محتوی چربی بالایی دارند (Song et al., 2011). طی فرایند سرخ کردن، افزایش دمای داخلی غذا باعث تبخیر رطوبت و تشکیل منافذی در پوسته سوخاری می‌شود و با نفوذ روغن به درون این منافذ، مقدار روغن محصول افزایش و مقدار رطوبت کاهش می‌یابد (Chen et al., 2008). مطالعات نشان داد که تفاوت در محتوای رطوبت نمونه‌ها توسط فیبر به دلیل تفاوت در جذب و حفظ رطوبت با توجه به نوع گوشت و روش پخت می‌باشد (Talukder & Sharma, 2011). به‌نظر می‌رسد افزودن فیبر به میگوی تقلیدی با به دام انداختن مولکول‌های آب، مانع از خروج رطوبت طی فرایند سرخ کردن می‌گردد که منجر به حفظ رطوبت بالاتر طی فرایند سرخ کردن و به همان نسبت جذب روغن کمتر می‌گردد. در مطالعه Karlović و همکاران (2009)، با افزودن 10 درصد نشاسته برنج به گوشت مرغ روکش‌دار و سرخ شده و مطالعه Ježek و همکاران (2009) با افزودن نشاسته برنج در مقادیر 6 تا 10 درصد، پکتین و فیبر چغندر قند در مقادیر 5 تا 9 درصد به گوشت مرغ پوشش داده شده و سرخ شده در زمان‌های مختلف، درصد چربی نمونه‌ها کاهش یافت که همسو با نتایج یافته‌های تحقیق حاضر می‌باشند. در سایر مطالعات افزودن فیبر گندم به ژل سوریمی ماهی مرکب (Alakhrash et al., 2016) و افزودن فیبر جودوسر به ژل سوریمی ماهی آلاسکاپولاک (Sanchez-Alonso et al., 2007) تأثیری در رطوبت نمونه‌ها نداشت.

پروتئین در نمونه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0/05$) و بیشترین مقدار پروتئین را تیمار دارای فیبر جودوسر داشت. عدم وجود تغییرات معنی‌دار بر میزان پروتئین میگوهای تقلیدی احتمالاً به دلیل پوسته محکم سوخاری تشکیل شده طی فرایند سرخ کردن مقدماتی است که مانع خروج بیش از اندازه رطوبت محصول و تغییر میزان پروتئین می‌گردد. تفاوت مشاهده شده در مقدار پروتئین تیمارهای مختلف در تحقیقات سایر محققین به افزودن فیبر در مقادیر مختلف نسبت داده شد (Sanchez-Alonso et al., 2007).

در اثر حرارت ناشی از فرایند پخت رخ می‌دهد (اجاق و همکاران، 1392). در این مطالعه کمترین میزان چروکیدگی در تیمار حاوی 6 درصد فیبر جودوسر مشاهده گردید و میان کلیه تیمارها با تیمار شاهد و فیبر جودوسر 5 درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p < 0/05$). میان میزان جذب روغن، از دست رفتن رطوبت و ایجاد چروکیدگی در محصولات غذایی سرخ شده ارتباطی خطی وجود دارد و به‌طور کلی، میان میزان چروکیدگی و مقدار افت رطوبت محصول ارتباط مستقیمی موجود است (Nguyen *et al.*, 2009).

با افزودن فیبر به میگوی تقلیدی درصد جذب لعاب نسبت به شاهد افزایش یافت و بیشترین مقدار جذب لعاب مربوط به نمونه‌های حاوی 5 درصد فیبر جودوسر و 6 درصد فیبر گندم بودند. درصد جذب لعاب مقدار لعابی است که به سطح ماده غذایی می‌چسبد و فاکتور مهمی برای محصولات لعاب‌ده شده و سوخاری شده می‌باشد. ظاهر، تردی و ضخامت روکش سرخ‌شده نهایی فاکتورهای تعیین‌کننده در علاقه و میل حسی به غذاهای روکش‌دار سرخ‌شده است، و کلیه این ویژگی‌ها ارتباط نزدیکی با درصد جذب لعاب دارد (جمشیدی و همکاران، 1391). مرحله آردزنی برای ایجاد یک سطح خشک در محصول به‌منظور لعاب‌دهی بهتر صورت می‌گیرد، بنابراین به‌نظر می‌رسد یکی از دلایل افزایش جذب لعاب در محصول دارای فیبر، علاوه بر مرحله آردزنی، خاصیت جذب آب فیبر نیز موجب شده تا سطح محصول خشک‌تر شود و لعاب بیشتری توسط محصول دارای فیبر جذب شود.

میزان رطوبت فرآورده‌های گوشتی لعاب‌دهی و سوخاری شده پس از سرخ کردن، متأثر از ظرفیت نگهداری آب پروتئین می‌باشد (اجاق و همکاران، 1392) که با رطوبت خارج شده از فرآورده تحت فشار رابطه معکوس دارد (Remya *et al.*, 2015). به‌علاوه میزان رطوبت و چربی در مواد غذایی نسبت معکوس دارند، در نتیجه در صورت کاهش رطوبت تحت فشار، ماده غذایی طی سرخ شدن چربی کمتری جذب می‌کند. رطوبت تحت فشار با افزایش سطوح فیبرها در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یافت ($P < 0/05$) و کمترین مقدار مربوط به تیمارهای دارای 6 درصد فیبر بود. این نتایج با مطالعه Talukder & sharma (2010) همخوانی دارد.

بافت‌سنجی

بافت، یکی از مهم‌ترین پارامترهای کیفی گوشت ماهی است و در صنایع فرآوری آبزیان اهمیت زیادی دارد (Jain *et al.*, 2007). آنالیز پروفایل بافت (TPA) یک روش علمی و تجربی برای ارزیابی بافت می‌باشد. آنالیز پروفایل بافت مقادیر سختی، خاصیت ارتجاعی، بهم‌پیوستگی، خاصیت چسبندگی و حالت جویدنی را تعیین می‌کند (Alakhrash *et al.*, 2016). مطابق با جدول 3، میان تیمار شاهد و

در مطالعه Yılmaz و همکاران (2003) افزایش سطح فیبر جودوسر به کوفته‌های گوشت گوساله سبب کاهش درصد رطوبت و افزایش درصد پروتئین گردید.

خاکستر مواد غذایی مجموعه‌ای از مواد معدنی موجود در غذا نظیر سدیم، فسفر و آهن بوده که در گوشت به عنوان ماده خام و یا در سایر مواد متشکله نظیر نمک و ادویه موجود می‌باشد (Fernández-López *et al.*, 2006). نتایج خاکستر تیمارهای مختلف نشان داد که بین تیمارهای حاوی فیبر و تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($p < 0/05$) و با افزایش سطح فیبر مقدار خاکستر کاهش می‌یابد. این نتایج با مطالعه Alakhrash و همکاران (2016) با افزودن فیبر جودوسر به سوریمی ماهی آلاسکاپولاک مطابقت داشت.

مقدار pH تیمارهای مختلف نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0/05$) و با افزایش سطح فیبرها مقدار pH افزایش یافت. افزایش pH را Cadun و همکاران (2015) در کلوجه ماهی¹ نگهداری شده در یخچال و دارای فیبر گندم گزارش کردند. با افزایش سطح فیبر گندم و جودوسر در کلوجه مرغ² کبابی شده، کاهش رطوبت، پروتئین و چربی و افزایش خاکستر و pH مشاهده گردید (Talukder & Sharma *et al.*, 2010).

بازده محصول، چروکیدگی، جذب لعاب و رطوبت تحت فشار

نتایج این بخش از مطالعه در جدول 2 آمده است. اندازه‌گیری بازده محصول یکی از شاخص‌های مهم ارزیابی محصولات لعاب‌دهی و سوخاری شده است که با مقدار وزن نهایی محصول ارتباط مستقیمی دارد (جمشیدی و همکاران، 1391) و برای مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان از نظر اقتصادی حائز اهمیت است (Das *et al.*, 2008).

میزان بازده محصول در تیمارهای دارای فیبر با افزایش سطح فیبر نسبت به شاهد افزایش یافت ($p < 0/05$). Talukder & Sharma (2010) دریافتند که با افزایش سطوح فیبر جودوسر و گندم بازده پخت افزایش می‌یابد. همچنین افزودن فیبر جودوسر و گندم در برگه‌های گوشت گاو بازده پخت را با کاهش آب از دست رفته هنگام پخت افزایش داد (Mansour & Khalil *et al.*, 1999). به‌نظر می‌رسد بازده محصول در تیمارهای حاصل متأثر از تغییرات میزان رطوبت و چربی طی فرایند سرخ کردن بود. به‌طوری‌که تیمارهای دارای فیبر بیشتر طی فرایند سرخ کردن دچار افت وزنی کمتری شده و به موجب آن درصد بازده محصول بیشتری را نشان دادند. چروکیدگی به دلیل از دست رفتن رطوبت و دناتورده شدن پروتئین

1 Fish Patty

2 Chicken Meat Patty

سایر تیمارها در کلیه شاخص‌های اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$) و با افزایش سطوح فیبرها مقدار هر یک از شاخص‌ها افزایش یافت. سختی نیروی بیشینه طی اولین فشردن

می‌باشد و از مهمترین پارامترهای کیفیت هنگام ارزیابی بافتی گوشت می‌باشد (Muthia et al., 2010).

جدول 1- تغییرات ترکیب تقریبی و pH میگوی تقلیدی سرخ شده حاوی سطوح مختلف فیبرهای جودوسر و گندم

تیمار	رطوبت	پروتئین	چربی	خاکستر	pH
شاهد	44/61±0/14 ^c	25/5±0/94 ^a	10/88±1/07 ^a	1/80±0/11 ^a	7/01±0/01 ^c
تیمار حاوی فیبر جودوسر 5%	47/76±0/09 ^b	26/6±0/61 ^a	9/75±0/64 ^a	0/88±0/01 ^b	7/03±0/00 ^{bc}
تیمار حاوی فیبر جودوسر 6%	49/56±0/05 ^a	26/03±0/00 ^a	6/47±0/21 ^b	0/62±0/15 ^b	7/05±0/00 ^b
تیمار حاوی فیبر گندم 5%	47/52±0/05 ^b	24/85±0/7 ^a	9/92±0/15 ^a	0/83±0/00 ^b	7/06±0/00 ^b
تیمار حاوی فیبر گندم 6%	49/06±0/72 ^a	24/9±0/27 ^a	5/51±0/3 ^b	0/82±0/02 ^b	7/11±0/01 ^a

داده‌ها به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مختلف (a-b) در هر ستون، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p < 0/05$). اعداد مربوط به پروتئین، چربی و خاکستر در وزن تر بیان شده است.

جدول 2- تغییرات مقادیر بازده محصول، چروکیدگی، جذب لعاب و رطوبت تحت فشار میگوی تقلیدی سرخ شده حاوی سطوح مختلف فیبرهای

جودوسر و گندم

تیمار	بازده محصول	چروکیدگی	جذب لعاب	رطوبت تحت فشار
شاهد	79/37±0/41 ^b	-2/72±0/51 ^b	11/91±0/4 ^c	4/14±0/29 ^a
تیمار حاوی فیبر جودوسر 5%	87/5±0/57 ^a	-2/59±0/26 ^b	22/13±0/38 ^a	4/35±0/37 ^a
تیمار حاوی فیبر جودوسر 6%	90/53±0/69 ^a	0/00±0/58 ^a	15/62±1/11 ^b	3/79±0/35 ^a
تیمار حاوی فیبر گندم 5%	89/17±0/98 ^a	-0/30±0/71 ^a	19/51±0/76 ^a	4/13±0/37 ^a
تیمار حاوی فیبر گندم 6%	91/68±4/22 ^a	-0/48±0/94 ^a	22/35±1/46 ^a	3/54±0/28 ^a

داده‌ها به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مختلف (a-b) در هر ستون، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p < 0/05$).

حاوی فیبر جودوسر بیشترین مقدار چسبندگی را نشان داد. بهم‌پیوستگی نشان‌دهنده توانایی نمونه به مقاومت در برابر تغییر شکل می‌باشد (Remya et al., 2015). پروتئین‌های میوفیبریل مهم‌ترین نقش را در طی خرد کردن گوشت به عنوان مسئول انسجام و بافت سفت محصولات گوشتی بازی می‌کنند (Kang et al., 2010; Xiong, 1997). میزان بهم‌پیوستگی در بین تیمارهای حاوی فیبر از نظر کمی تفاوتی وجود نداشت و بیشترین مقدار بهم‌پیوستگی مربوط به تیمار شاهد بود. این نتایج با نتایج Remya و همکاران (2015) همخوانی نداشت. خاصیت ارتجاعی یکی از ویژگی‌های مهم و شناخته شده محصولات قوام‌یابی شده است و به معنای توانایی محصول در بازگشتن به حالت اولیه هنگام فشردن است (Noordin et al., 2014). بیشترین مقدار این شاخص مربوط به تیمار حاوی 6 درصد فیبر جودوسر می‌باشد. هرچه میزان چسبندگی ژل تولیدی بیشتر باشد، میزان فنریت نیز افزایش می‌یابد (park et al., 2005). قابلیت جویدن مضرری از چسبندگی و ارتجاعیت است. کاهش میزان قابلیت جویدن با کاهش میزان چسبندگی نمونه‌ها ارتباط دارد (Muthia et al., 2010). با بالا رفتن سطح فیبر حالت جویدنی افزایش یافت. بیشترین مقدار حالت جویدنی مربوط به تیمار شاهد بود و تفاوت

در بین تیمارها، شاهد بیشترین مقدار سختی را به خود اختصاص داد و بین تیمارهای دارای فیبر جودوسر و گندم تیمار دارای فیبر جودوسر در هر دو سطح نسبت به فیبر گندم بیشترین سختی را نشان داد اما با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > 0/05$). Martinez (1989) پیشنهاد کرد که مقدار پروتئین نمونه‌های سوریمی تأثیر زیادی بر سختی ژل‌های سوریمی خواهد داشت و کیفیت پروتئین خاصیت ارتجاعی آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش درصد پروتئین با افزایش سطح فیبر؛ فاکتور مهمی در کاهش قدرت ژل و سختی است. کاهش سختی به نحوه انتشار پروتئین در شبکه ژل نیز مرتبط می‌باشد (Sa'nchez-Alonso et al., 2007). کاهش رطوبت سوریمی گوشت گاو منجر به بیشتر شدن سختی ژل شد (Kang et al., 2010). به نظر می‌رسد افزایش درصد پروتئین و رطوبت با بالا رفتن سطح فیبر سبب افزایش سختی در تیمارهای دارای فیبر شده است. Remya و همکاران (2015) با افزودن نشاسته اصلاح‌شده به میگوی تقلیدی افزایش سختی را مشاهده کردند. چسبندگی به معنی تغییر شکل رخ داده طی گاز زدن محصول می‌باشد (Noordin et al., 2014). در تیمارهای تولیدی، تیمار شاهد بالاترین چسبندگی را نشان داد و در بین تیمارهای دارای فیبر، تیمار

معنی داری بین شاهد و دیگر تیمارها وجود نداشت ($p > 0/05$).

سوریمی آلاسکاپولاک مشاهده گردید. این نوسانات به نوع فیبر مورد استفاده، طول زنجیره آن، همچنین سطح غنی سازی و گونه های آبی بستگی دارد. همچنین ثابت نگه داشتن مقدار پروتئین و رطوبت ژل های سوریمی نیز در میزان این نوسانات تاثیر گذارند (Debusca et al., 2014). علاوه بر این در طی تشکیل ژل پروتئین سوریمی، افزودن فیبر پروتئین های بستر ژل را رقیق کرده یا می شکند و با پروتئین برای جذب آب رقابت می کند (Sánchez-Alonso et al., 2007).

این نتایج با مطالعه Karlović و همکاران (2009) در ارتباط با کاهش سختی و افزایش خاصیت ارتجاعی مطابقت دارد. افزودن فیبر گندم بر کلوجه ماهی نگهداری شده در یخچال، سبب افزایش سختی و خاصیت ارتجاعی و کاهش نیروی چسبندگی و بهم پیوستگی گردید (Cadun et al., 2015). در مطالعه Alakhrash و همکاران (2016) افزایش سختی، خاصیت ارتجاعی، بهم پیوستگی و خاصیت چسبندگی و حالت چسبندگی با افزودن فیبر جودوسر به

جدول 3- تغییرات بافتی میگوی تقلیدی سرخ شده حاوی سطوح مختلف فیبرهای جودوسر و گندم

تیمار	سختی (g)	خاصیت چسبندگی (g)	نیروی چسبندگی (gs)	بهم پیوستگی	حالت جویدنی (g.mm)	خاصیت ارتجاعی (mm)
شاهد	233/33±36/45 ^a	184/38±27/04 ^a	-1/89±0/11 ^a	0/79±0/00 ^a	488/02±99/77 ^a	2/62±0/2 ^a
تیمار حاوی فیبر جودوسر 5%	220/67±20/35 ^a	163/4±15/41 ^a	-1/86±0/39 ^a	0/74±0/00 ^a	446/63±63/3 ^a	2/7±0/14 ^a
تیمار حاوی فیبر جودوسر 6%	228/33±17/87 ^a	166/4±16/81 ^a	-2/14±0/09 ^a	0/72±0/02 ^a	476/51±53/74 ^a	2/86±0/14 ^a
تیمار حاوی فیبر گندم 5%	170/33±31/03 ^a	120/97±19/24 ^a	-1/92±0/25 ^a	0/72±0/02 ^a	339/66±84/92 ^a	2/71±0/31 ^a
تیمار حاوی فیبر گندم 6%	196/5±26/5 ^a	141/58±16/95 ^a	-2/16±0/12 ^a	0/72±0/03 ^a	400/11±58/8 ^a	2/81±0/17 ^a

داده ها به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده اند. حروف مختلف (a-d) در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد ($p < 0/05$).

رنگ سنجی

(Debusca et al., 2014). تیمار دارای فیبر جودوسر نسبت به فیبر گندم مقدار زردی بیشتری را نشان داد و با افزایش سطح فیبر جودوسر زردی افزایش می یابد. افزایش مقدار زردی نمونه ها می تواند به دلیل حضور رنگدانه های کاروتنوئیدی موجود در فیبر جودوسر باشد (Alakhrash et al., 2016). افزایش قرمزی به دلیل قهوه ای شدن غیر آنزیمی و فرایند کارامله شدن در روکش طی عمل سرخ کردن عمیق بود. طی فرایند سرخ کردن محصولات لعاب دهی و سوخاری شده واکنش های شیمیایی مختلفی از قبیل غیر طبیعی شدن پروتئین ها، ژلاتینه شدن نشاسته و واکنش قهوه ای شدن لعاب و پوشش آرد سوخاری رخ می دهد که کلیه این واکنش ها، باعث ایجاد تغییرات پیچیده در رنگ می گردند (Das et al., 2013). این نتایج با یافته های Sánchez-Alonso و همکاران (2006) مطابقت نداشت.

یکی از مهم ترین پارامترهایی که بر میزان بازار پسندی محصولات روکش دار موثر است، رنگ نهایی این محصولات می باشد. فرایند سرخ کردن باعث کاهش مقدار روشنایی، سفیدی و زردی و افزایش مقدار قرمزی شد. نتایج مربوط به رنگ سنجی در جدول 4 آمده است. بیشترین مقدار روشنایی، سفیدی و زردی در تیمار شاهد مشاهده شد. تفاوت در رنگ با نوع ماهیچه ماهی و نوع فیبر افزوده شده مرتبط است. رنگدانه های درونی به طور طبیعی در گونه هایی با ماهیچه تیره بیشترین تاثیر را دارند. به نظر می رسد افزودن فیبر در ماهیان با گوشت تیره، سبب احاطه شدن رنگدانه های تیره توسط فیبر شده و سبب افزایش سفیدی می گردد. در حالی که افزودن فیبر در ماهیانی با عضله سفید و فاقد رنگدانه تیره بر سفیدی و روشنایی موثر نمی باشد

جدول 4- تغییرات رنگ میگوی تقلیدی سرخ شده حاوی سطوح مختلف فیبرهای جودوسر و گندم

تیمار	L*	a*	b*	سفیدی
شاهد	79/73±0/96 ^a	3/9±0/00 ^a	9/13±0/26 ^a	77/42±0/96 ^a
تیمار حاوی فیبر جودوسر 5%	70/6±0/23 ^b	4/16±0/26 ^a	8/06±0/26 ^{bc}	69/22±0/24 ^b
تیمار حاوی فیبر جودوسر 6%	71/4±0/46 ^b	4/43±0/26 ^a	8/6±0/00 ^{ab}	69/8±0/47 ^b
تیمار حاوی فیبر گندم 5%	70/2±0/23 ^b	4/16±0/26 ^a	7/8±0/00 ^{cd}	68/91±0/25 ^b
تیمار حاوی فیبر گندم 6%	69/8±0/4 ^b	4/43±0/26 ^a	7/33±0/23 ^d	68/6±0/37 ^b

داده ها به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده اند. حروف مختلف (a-d) در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد ($p < 0/05$).

آلاسکاپولاک سفیدی افزایش یافت. Alakhrash و همکاران (2016)

در مطالعه آنها افزودن فیبر گندم به ژل سوریمی ماهی

افزودن فیبر جودوسر به ژل سوریمی را سبب کاهش روشنایی و سفیدی نمونه‌ها و افزایش شاخص قرمزی دانستند.

ارزیابی حسی

مطابق با نتایج جدول 5، افزودن فیبر به میگوی تقلیدی سبب بهبود برخی شاخص‌های حسی شد اما تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) در هیچ یک از شاخص‌های ارزیابی حسی در بین نمونه‌های مختلف مشاهده نشد. تغییرات در شاخص‌های حسی در نمونه‌های حاوی

فیبر گندم نسبت به فیبر جودوسر بهتر بود. Remya و همکاران (2015) با افزودن نشاسته اصلاح شده به میگوی تقلیدی تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های حسی مشاهده نکردند ($p > 0/05$). در مطالعه‌ای با افزودن فیبر جودوسر به ناگت مرغ؛ امتیاز بافت، طعم و پذیرش کلی به‌طور معنی‌دار کاهش و ظاهر ناگت بهبود یافت (Santhi, & Kalaikannan, 2014).

جدول 5- تغییرات ارزیابی حسی میگوی تقلیدی سرخ شده حاوی سطوح مختلف فیبرهای جودوسر و گندم

تیمار	بافت	طعم	تردی	رنگ	بو	ظاهر	پذیرش کلی
شاهد	6/1±0/56 ^a	6/3±0/57 ^a	6±0/55 ^{ab}	6/6±0/47 ^a	6/6±0/54 ^a	6/9±0/45 ^a	6/6±0/47 ^a
تیمار حاوی فیبر جودوسر 5%	6±0/47 ^a	5/9±0/43 ^a	5/7±0/44 ^{ab}	6/8±0/44 ^a	6/2±0/32 ^a	6/8±0/41 ^a	6/3±0/44 ^a
تیمار حاوی فیبر جودوسر 6%	5/8±0/53 ^a	5/8±0/46 ^a	5/3±0/42 ^b	6/8±0/38 ^a	6±0/39 ^a	7/1±0/31 ^a	6/2±0/41 ^a
تیمار حاوی فیبر گندم 5%	6/8±0/24 ^a	6/5±0/42 ^a	6/7±0/26 ^a	6/9±0/37 ^a	6/4±0/33 ^a	6/6±0/47 ^a	6/6±0/33 ^a
تیمار حاوی فیبر گندم 6%	6±0/44 ^a	6/1±0/5 ^a	6/4±0/42 ^{ab}	6/6±0/45 ^a	6/6±0/49 ^a	6/4±0/49 ^a	6/2±0/53 ^a

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مختلف (a-d) در هر ستون، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری

نتایج ارزیابی اثر افزودن فیبرهای خوراکی به میگوی تقلیدی سوخاری شده طی سرخ کردن عمیق نشان داد که با افزایش سطح فیبرها، درصد چربی کاهش و درصد رطوبت افزایش یافت. مقدار بازده محصول افزایش یافت. درصد پروکیدیگی با افزودن فیبرها کاهش یافت و کمترین میزان پروکیدیگی در تیمار حاوی 6 درصد فیبر جودوسر مشاهده شد. از نظر ویژگی‌های بافتی نمونه‌های حاوی فیبر جودوسر نسبت به فیبر گندم و شاهد بهتر بود. با افزودن هر دو

فیبر روشنایی و سفیدی کاهش یافت. از نظر ارزیابی حسی تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها مشاهده نشد. با توجه به افزایش روزافزون مصرف فرآورده‌های آماده مصرف، می‌توان پیشنهاد کرد که افزودن فیبرهای خوراکی در سطوح بالا می‌تواند سبب افزایش اثرات سلامت‌بخش و کیفیت این محصولات گردد. بنابراین در این مطالعه با در نظر گرفتن کلیه نتایج افزودن فیبرهای خوراکی در سطوح بالا مناسب بوده و تیمار حاوی فیبر جودوسر با سطح 6 درصد نسبت به دیگر نمونه‌ها سبب تولید محصول بهتری گردید.

منابع

- Akdeniz, N., Sahin, S., & Sumnu, G., 2006, Functionality of batters containing different gums for deep-fat frying of carrot slices. *Journal of Food Engineering*, 75(4):522-526.
- Alakhrash, F., Anyanwu, U., & Tahergorabi, R., 2016, Physicochemical properties of Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) surimi gels with oat bran. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 41-47.
- AOAC, 1990, Official methods of analysis (14th ed), Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Benjakul, S., Visessanguan, W., & Srivilai, C., 2001, Gel properties of Bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) surimi as affected by setting and porcine plasma protein. *Journal Food Qual*, 24(5), 453-471.
- Chen, C. L., Li, P. Y., Hu, W. H., Lan, M. H., Chen, M. J., & Chen, H. H., 2008, Using HPMC to improve crust crispness in microwave-reheated battered mackerel nuggets: water barrier effect of HPMC. *Journal of Food Hydrocolloids*, 22(7), 1337-1344.
- Cadun, A., Çaklı, Ş., Kışla, D., Dinçer, T., & Erdem, Ö.A., 2015, Effect of fibers on the quality of fish patties stored at (0-4°C). *Journal of Food and Health Science*, 1(4): 211-219.
- Das, K. A., Anjaneyulu, A. S. R., Gadekar, Y.P., Singh, R. P., & Pragati, H., 2008, Effect of full-fat soy past and textured soy granules on quality and shelf-life of goat meat nuggets in frozen storage. *Journal of Meat Science*, 80(3):607-14.
- Das, R., Pawar, D. P., Modi, V. K., 2013, Quality characteristics of battered and fried chicken: comparison of pressure frying and conventional frying. *Journal of food science and technology*, 50(2): 284-292.
- Debnath, S., Bhat, K. K., & Rastogi, N. K., 2003, Effect of pre-drying on kinetics of moisture loss and oil uptake

- during deep fat frying of chickpea flour-based snack food. *LWT-Food Science and Technology*, 36(1), 91-98.
- Debusca, A., Tahergorabi, R., Beamer, S., Matak, K., and Jaczynski, J., 2014, Physicochemical properties of surimi gels fortified with dietary fiber. *Food Chemistry*, 148: 70-76.
- Elleuch, M., Bendigian, D., Reiseum, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H., 2011, Dietary fiber and fiber-rich by-products of food processing: characterization, technological functionality and commercial application: A review. *Food Chemistry*, 124(2): 411-421.
- Fernández-López, J., Jiménez, S., Sayas-Barberá, E., Sendra, E., & Pérez-Alvarez, J. A., 2006, Quality characteristics of ostrich (*Struthio camelus*) burgers. *Meat science*, 73(2), 295-303.
- Hema, K., Shakila R.J., Shanmugam, S.A., & Jeevithan, E., 2015, Processing and storage of restructured surimi stew product in retortable pouches. *Journal of Food Science and Technology*. 52(3):1283-1289.
- Himonides, A., Taylor, K. A., & Knowles, M. J., 1999, the improved whitening of cod and haddock flaps using hydrogen peroxide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79(6): 845-850.
- Jain, D., Pathare, P. B., & manikanta, M.R., 2007, Evaluation of texture parameters of Rohu fish (*Labeo rohita*) during iced storage. *Journal of Food Engineering*, 81(2): 336-340.
- Jafarpour, A., & Gorczyca, E. M., 2008, Characteristics of sarcoplasmic proteins and their interaction with surimi and kamaboko gel. *Journal of Food Science, Engineering and Technology*. 91: 750-841.
- Jamshidi, A., Shabanpour, B., Rahmanifarah, K., Peyhanbari, S.y., Rostamzad, H., Azaribeh, M., and Barzegar, L., 1391, Investigating the effect of xanthan gum, alginate and carboxymethylcellulose and dehydration conditions on quality of fish finger. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, Vol. 1, No. 4, p. 306-295.
- Ježek, D., Brnčić, M., Brnčić, S. R., Karlović, S., Bosiljkov, T., Tripalo, B., & Pukec, D., 2009, Porosity of Deep Fat Fried Breaded Chicken Meat. *Food Technology & Biotechnology*, 47(4).
- Kang, G. H., Park, G. B., Joo, S. T., Lee, M., & Lee, S. K., 2010, Effects of muscle fiber types on gel property of surimi-like materials from chicken, pork and beef. *Journal Muscle Foods*, 21(3):570-584.
- Kang, G. H., Yang, H. S., Jeong, J.Y., Moon, S. H., Hur, S. J., Park, G. B., & Joo, S. T. 2007. Gel color and texture of surimi-like pork from muscles at different rigorstates post-mortem. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 20(7):1127-1134.
- Karlović, S., Bosiljkov, T., Ježek, D., Tripalo, B., Brnčić, M., Karlović, D., & Šimunec, M., 2009, Influence of frying time and addition of rice starch on oil uptake and textural properties of fried coated chicken meat. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 4: (3-4), 116-119.
- Lalam, S., Sandhu, J. S., Takhar, P., Thompson, L., & Alvarado, C., 2013, Experimental study on transport mechanisms during deep fat frying of chicken nuggets. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1): 110-119.
- Lou, Y. K., Pan, D. D., & Ji, B. P., 2004, Gel properties of surimi gel from bighead carp (*Aristichthys nobilis*): Influence of setting and soy protein isolate. *Journal of Food Science*, 69(8): E374-E378.
- Mansour, E. H., & Khalil, A. H., 1999, Characteristics of low fat beefburgers as influenced by various types of wheat fibers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(4):493-498.
- Martinez, I., 1989, Water retention properties and solubility of the myofibrillar proteins: Interrelationships and possible values as indicators of the gel strength in cod surimi by a multivariate data analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 46(4), 469-479.
- Mellema, M., 2003. Mechanism and reduction of fat uptake in deep-fat fried foods. *Trends in food science and technology*, 14(9):364-373.
- Modi, V. K., Sachindra, N. M., Nagegowda, P. Mehendrakar, N. S., & Rao, D. N., 2007, Quality changes during the storage of dehydrated chicken kebab mix. *International Journal of Food Science and technology*, 42(7): 827-835.
- Muthia, D., Nurul, H., & Noryati, I., 2010, the effects of tapioca, wheat, sago and potato flours on the physicochemical and sensory properties of duck sausage. *International Food Research Journal*, 17(4): 877-884.
- Noordin, W. N. M., Shunmugam, N., & Huda. N., 2014, Application of salt solution and vacuum packaging in extending the shelf life of cooked fish balls for home and retail uses. *Journal of Food Quality*, 37(6): 444-452.
- Nguyen, B. E., 2009, Effects of methylcellulose on the quality and shelf-life of deep-fat fried and oven baked chicken nuggets. A Thesis in Food Science, 87P.
- Ojagh, S.M., Kazeminiya, S., Jamshidi, A., Shabanpour, B., 1392, the effect of different temperatures of pre-frying in canola oil on the quality and amount of oil absorption in different parts of the nugget of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Journal of Aquaculture and Animal Production*. Volume 2, Number 4, Pages 43-59.
- Park, J. W., & Lin, T. J., 2005, Surimi: manufacturing and evaluation. *Surimi and surimi seafood*, 33-106.
- Park, J. W., Graves, D., Draves, R., & Yongsawatdigul, J., 2013, 3 *Manufacture of Surimi*. *Surimi and Surimi Seafood*, 55-96.
- Parvane, V. 1377, Quality control and chemical testing of food. Sixth edition, Tehran University Press 33, p 325.
- Remya, S., Basu, S., Venkateshwarlu, G., & Mohan, C. O., 2015, Quality of shrimp analogue product as affected by addition of modified potato starch. *Journal of food science and technology*, 52(7): 4432-4440.
- Saguy, I. S., & Pinthus, E. J., 1995, Oil uptake during deep-fat frying: factors and mechanism. *Food technology (USA)*.

- Sanjuás-Rey, M., Pourashouri, P., Barros-Velázquez, J., & Aubourg, S. P., 2012, Effect of oregano and thyme essential oils on the microbiological and chemical quality of refrigerated (4° C) ready-to-eat squid rings. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(7):1439-1447.
- Sánchez-Alonso, I., Solas, M., & Borderías, A.J., 2007, Technological implications of addition of wheat dietary fibre togiant squid (*Dosidicus gigas*) surimi gels. *Journal of Food Engineering*, 81(2): 404–411.
- Sánchez-Alonso, I., Haji-Maleki, R., & Borderías, A.J., 2006, Effect of wheat fibre in frozen stored fish muscular gels. *European Food Research and Technology*, 223(4): 571–576.
- Santhi, D., & Kalaikannan, A., 2014, The Effect of the Addition of Oat Flour in Low-Fat Chicken Nuggets. *Journal Nutrition and Food Sciences*, 4: 260.
- Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J., & Luo, Y., 2011, Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*, 22(3): 608-615.
- Tahergorabi, R., Beamer, S. K., Matak, k. E., & Jaczynski, J., 2012, Salt substitution in surimi seafood and its effects on instrumental quality attributes. *LWT - Food Science and Technology*, 48(2): 175-181.
- Tosh, S. M., & Yada, S., 2010, Dietary fibres in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications. *Food Research International*, 43(2) :450–460.
- Talukder, S., & Sharma, D. P., 2010, Development of dietary fiber rich chicken meat patties using wheat and oat bran. *Journal Food Science and Technology*, 47(2):224–229.
- Xiong, Y. L., 1997, Structure-function relationships of muscle protein. *Food Science and Technology*-New York-Mmarcel Dekker, pp, 341-392.
- Yılmaz, I., & Dağlıoğlu, O., 2003, The effect of replacing fat with oat bran on fatty acid composition and physicochemical properties of meatballs. *Meat Science*, 65(2): 819-823.
- Zamanineghad, SH., Shabanpour, B., Shabani, A, 1394, Effect of Consistency with Differential Heat on the Physico-chemical Properties of Surimi Mushroom Carp (*Cyprinus carpio*). Volume 5, Issue 1, Year 17, Pages 89-77.

Effect of wheat and oat dietary fibers on quality and prevention of shrimp analogue products deformation during deep frying

S. Heydari¹, B. Shabanpour^{2*}, P. Pourashouri³

Received: 2015.09.03

Accepted: 2016.06.23

Introduction: One of the most important factors in the production of bread products is the frying process. Deep frying by moving a water mass separated from the product to the outside can cause deformation and fracture of the crust of bread products, therefore, This study aimed to evaluate the effect of adding edible wheat and oat dietary fibers and prevent deformation quality of shrimp analogue products, as a value-added product produced from surimi.

Materials and Methods: The shrimps analogue were produced of *Hypophthalmichthys molitrix* fish surimi by using a composite-molded method with preparation filament of surimi in five treatments including a fiber-free treatment and four others have 5 and 6 percent oats and wheat fiber; coating, pre-fried and were frozen. In order to perform experiments, the shrimp's analogue were thawed and fried.

Results and Discussion: The results showed that the highest amount of moisture and the lowest amount of fat were in treatments containing 6% 49.06 and 5.51 wheat fiber respectively and 49.56 and 6.47 oat fiber respectively ($p < 0.05$). Treatments with 6% oat fiber without shrinkage (0%) and the highest percentage of shrinkage was observed in control ($p < 0.05$). Texture characteristics such as hardness, gumminess, chewiness and springiness were increased by adding fiber compared to the control, but these characteristics were higher in samples containing oat fiber compared to wheat fiber ($p < 0.05$). The sensory evaluation was not different between treatments ($p < 0.05$). The results indicated on the influence of the use of fibers in absorbing moisture and preventing of deformation of produced products and Adding 6% oat fiber compared with wheat fiber was a more favorable effect on the texture properties and deformation resulting from frying and the optimal treatment was evaluated.

Keywords: texture and physical properties, dietary fiber, shrimp analogue

-
1. Former MSc Student , Department of seafood Processing Group, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran
 2. Professor, Department of seafood Processing Group, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran
 3. Assistant Professor, Department of seafood Processing Group, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran
- (* - Corresponding Author Email: b_shabanpour@yahoo.com)

Contents

Application of Iranian Sepiolite in Clarification of Apple Juice: Changes on Quality Characteristics during Process	16
M. Mirzaaghaei, S. A. H. Goli, M. Fathi	
Modeling of the some selected chemical properties of black Cumin seeds' oil influenced by microwave pretreatment and screw rotational speed	26
H. Bakhshabadi, H. A. Mirzaei, A. R. Ghodsvali, S. M. Jafari, A. M. Ziaiefar	
Effect of nanoclay addition on the properties of agar/fish gelatin bilayer film containing TiO nanoparticles	38
S. M. Ojagh, A. Vejdani, M. Abdollahi	
Preparation and characterization of some functional properties of Aroos bean (<i>PPhaseolus Vulgaris</i>) protein isolate	47
S. Osia, Z. Raftani Amiri	
Firmness evaluation of irradiated tomato in combination with Polyethylene coat using Acoustic technique	58
H. A. Tash-Shamsabadi, S.H. Yoosefian, A. Mohammad-Razdari	
Effect of extraction methods on phenolic content and antimicrobial properties of pimpinella affinis leaf	68
E. Shekouh Saremi, M. B. Habibi Najafi, M. H. Hadad Khodaparast, M. Baheini	
The comparison between enzymatic, Ohmic and conventional methods on the yield and quality properties of the extracted pectins from orange waste	80
H. Saberian, Z. Hamidi-Esfahani, H. Ahmadi Gavlighi, M. Barzegar	
Evaluation of Bioactive Compounds of <i>White mahaleb Juice</i>	92
F. Bazrafkan, S. Zaringhalami, A. Ganjloo	
Developing probiotic bread using <i>Lactobacillus reuteri</i> part : Evaluation of fluidized bed double microencapsulation on thermal stability of <i>Lactobacillus reuteri</i>	106
L. Zaghari, A. R. Bassiri, S. Rahimi, A. Zonusi	
The effect of Xanthan gum added to the coated breaded shrimp (<i>Litopenaeusvannamei</i>) on oil uptake, nutritional quality indices and sensory properties	118
B. Attar- S. Z. Sayyed-Alangi-S. Jorjani	
Effect of concentration on the rheological and physicochemical properties of lemon juice	131
A. Motamedzadegan, E. Omidbakhsh Amiri, M. Jamshidi, T. Khosravi rad	
Effect of Tio nanocomposite on, sensory, microbial and chemical properties of refrigerated rainbow trout fillet (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	144
Z. H. Noori, B. Shabanpour, H. Azizi, S. M. Ojagh, A. Alishahi	
Feasibility study on caramel color production from grape and date and Microencapsulation of the color by freeze drying	161
E. Ghaem Far, M. R. Hojjati	
Evaluation of oil fatty acid profile, functional properties and antioxidants activity of hydrolyzate produced from rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) viscera by application of protamex and neutrase enzymes	176
S. Reyhani Poul, S. A. Jafarpour, R. Safari	
Assessment of physicochemical properties and bioactive compound of date fruit (<i>Phoenix dactylifera</i>) in two cultivars, "Piarom" and "Zahedi"	186
S. Zarbakhsh, S. Rastegar	
Molecular identification, bioinformatics analysis and phylogenetic relationships of <i>Lactobacillus plantarum</i> in traditional and industrial sourdough	194
E. Eshagh Abadi, F. Shahriari Ahmadi, M. R. Nassiri, M. R. Edalatian Dovom, A. Mirshamsi	
Effect of different storage methods on quantity and quality of potato	206
J. Nabati, F. Izadi, R. Abbasi, F. Hassani	
Effect of wheat and oat dietary fibers on quality and prevention of shrimp analogue products deformation during deep frying	217
S. Heydari, B. Shabanpour, P. Pourashouri	

Iranian Food Science and Technology Research Journal

Vol. 14

No. 1

2018

Published by: Ferdowsi University of Mashhad

Executive Manager: Shahnoushi, N.

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.14

No.1

2018

Iranian Food Science and Technology Research Journal



ISSN:1735-4161

Contents

Application of Iranian Sepiolite in Clarification of Apple Juice: Changes on Quality Characteristics during Process	16
M. Mirzaaghaei, S. A. H. Goli, M. Fathi	
Modeling of the some selected chemical properties of black Cumin seeds' oil influenced by microwave pretreatment and screw rotational speed	26
H. Bakhshabadi, H. A. Mirzaei, A. R. Ghodsvali, S. M. Jafari, A. M. Ziaiefar	
Effect of nanoclay addition on the properties of agar/fish gelatin bilayer film containing TiO nanoparticles	38
S. M. Ojagh, A. Vejdani, M. Abdollahi	
Preparation and characterization of some functional properties of Aroos bean (<i>PPhaseolus Vulgaris</i>) protein isolate	47
S. Osia, Z. Raftani Amiri	
Firmness evaluation of irradiated tomato in combination with Polyethylene coat using Acoustic technique	58
H. A. Tash-Shamsabadi, S.H. Yoosefian, A. Mohammad-Razdari	
Effect of extraction methods on phenolic content and antimicrobial properties of pimpinella affinis leaf.....	68
E. Shekouh Saremi, M. B. Habibi Najafi, M. H. Hadad Khodaparast, M. Baheini	
The comparison between enzymatic, Ohmic and conventional methods on the yield and quality properties of the extracted pectins from orange waste	80
H. Saberian, Z. Hamidi-Esfahani, H. Ahmadi Gavlighi, M. Barzegar	
Evaluation of Bioactive Compounds of <i>White mahaleb Juice</i>	92
F. Bazrafkan, S. Zaringhalami, A. Ganjloo	
Developing probiotic bread using <i>Lactobacillus reuteri</i> part : Evaluation of fluidized bed double microencapsulation on thermal stability of <i>Lactobacillus reuteri</i>.....	106
L. Zaghari, A. R. Bassiri, S. Rahimi, A. Zonusi	
The effect of Xanthan gum added to the coated breaded shrimp (<i>Litopenaeusvannamei</i>) on oil uptake, nutritional quality indices and sensory properties	118
B. Attar- S. Z. Sayyed-Alangi-S. Jorjani	
Effect of concentration on the rheological and physicochemical properties of lemon juice	131
A. Motamedzadegan, E. Omidbakhsh Amiri, M. Jamshidi, T. Khosravi rad	
Effect of Tio nanocomposite on, sensory, microbial and chemical properties of refrigerated rainbow trout fillet (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	131
Z. H. Noori, B. Shabanpour, H. Azizi, S. M. Ojagh, A. Alishahi	
Feasibility study on caramel color production from grape and date and Microencapsulation of the color by freeze drying	161
E, Ghaem Far, M. R. Hojjati	

Continue Content in cover