

شاپا: ۴۱۶۱-۱۷۳۵

شماره پیاپی ۵۰

عنوان مقالات

- مقایسه تنوع میکروبی دوغ گوسفندی عشایر ناحیه سومار به کمک روش‌های نسل جدید توالی‌یابی و مولکولی
وابسته به کشت ۶۸۵
نفیسه دعوتی - شهره حسامی
- تأثیر نوع بسته‌بندی بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و حسی مغز گردو طی مدت نگهداری آن ۶۹۹
سمیه رستگار - اعظم شجاعی - بهجت تاج‌الدین
- تعیین خواص کیفی، بافتی و حسی کیکهای روغنی تهیه شده با سبوس جوی دوسر و دانه کتان به‌عنوان
جایگزین بخشی از چربی ۷۱۵
سارا جامه‌در - سارا موحد - بابک غیائی طرزی
- پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه بادمجان در خشک‌کن پیوسته با استفاده از
روش‌های جدید ۷۲۵
محمد کاوه - رضا امیری چایجان - یوسف عباس‌پور گیلانده - ترحم مصری گندشمن
- بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی اسیدهای جنتیسیک و آلفا-رزورسیلیک در محیط‌های روغنی و امولسیون‌های
روغن در آب آنها ۷۴۳
آزاده مردانی قهفرخی - رضا فرهوش - علی شریف
- بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ناگت مرغ تولید شده با آرد دانه تاج خروس ۷۵۵
مریم تام‌سن - نفیسه سلطانی‌زاده - هاجر شکرچی‌زاده
- سینتیک نفوذ ترکیبات فنولی پسماند انگور در ژل آلونه ورا حین آگیری اسمزی ۷۶۷
الهام آذرپژوه - پروین شرایعی - فرزاد غیبی
- اثر روغن جوانه‌گندم استخراج شده با پیش تیمار مایکروویو بر پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا ۷۷۷
محمدتقی گل‌مکانی - مرضیه موسوی نسب - ملیحه کرامت - آذین آژند
- سینتیک تخریب ویتامین C (L-آسکوربیک اسید) طی بلانچینگ خشک مادون قرمز و آب‌دایی همزمان
برش‌های سیب با روش حرارت‌دهی متناوب ۷۸۹
حسن صباغی - امان محمد ضیائی فر - مهدی کاشانی‌نژاد
- ارزیابی اثر نایسین، استات سدیم و دما بر کیفیت فیله کپور علفخوار تلقیح شده با *استافیلوکوکوس اورئوس* ۸۰۳
نادر چراغی - ابراهیم عزیززاده دوغیکلایی - محسن شهریاری مقدم
- اثر عصاره گل انار و ویتامین B بر روی ماندگاری و خواص حسی دونات سرخ شده ۸۱۷
مهین حیدری اشکذری - مانیا صالحی‌فر

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

آذر - دی 1397

شماره 5

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

سردبیر: دکتر سید محمد علی رضوی

کارشناس امور اجرایی: دکتر مسعود تقی زاده

اعضای هیئت تحریریه:

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)

دکتر محمدرضا احسانی

دکتر هاشم پورآذرنگ

دکتر محمدباقر حبیبی نجفی

دکتر اصغر خسروشاهی

دکتر مرتضی خمیری

دکتر سید محمد علی رضوی

دکتر محمد علی سحری

دکتر فخری شهیدی

دکتر ناصر صداقت

دکتر عسگر فرحناکی

دکتر رضا فرهوش

دکتر بی بی صدیقه فضلی بزاز

دکتر مهدی کاشانی نژاد

دکتر مهدی کدیور

دکتر سید علی مرتضوی

دکتر محمدجواد وریدی

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: 8795618-20 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 (MAGIRAN)

پست الکترونیکی: ifstrj@um.ac.ir

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

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

- 685 مقایسه تنوع میکروبی دوغ گوسفندی عشایر ناحیه سومار به کمک روش های نسل جدید توالی یابی و مولکولی وابسته به کشت نفیسه دعوتی - شهره حسامی
- 699 تأثیر نوع بسته بندی بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و حسی مغز گردو طی مدت نگهداری آن سمیه رستگار - اعظم شجاعی - بهجت تاج الدین
- 715 تعیین خواص کیفی، بافتی و حسی کیکهای روغنی تهیه شده با سبوس جوی دوسر و دانه کنان به عنوان جایگزین بخشی از چربی سارا جامه در - سارا موحد - بابک غیائی طرزی
- 725 پیش بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه بادمجان در خشک کن پیوسته با استفاده از روش های جدید محمد کاوه - رضا امیری چایجان - یوسف عباسپور گیلانده - ترجم مصری گندشمن
- 743 بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسیدهای جنتیسیک و آلفا-رزورسیلیک در محیط های روغنی و امولسیون های روغن در آب آنها آزاده مردانی قهفرخی - رضا فرهوش - علی شریف
- 755 بررسی ویژگی های فیزیکوشیمیایی ناگت مرغ تولید شده با آرد دانه تاج خروس مریم تام سن - نفیسه سلطانی زاده - هاجر شکرچی زاده
- 767 سینتیک نفوذ ترکیبات فنولی پسماند اتکور در ژل آلونه ورا حین آبگیری اسمزی الهام آذربزوه - پروین شرایعی - فرزاد غیبی
- 777 اثر روغن جوانه گندم استخراج شده با پیش تیمار مایکروویو بر پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا محمد تقی گلمکانی - مرضیه موسوی نسب - ملیحه کرامت - آذین آژند
- 789 سینتیک تخریب ویتامین C (L-آسکوربیک اسید) طی بلانچینگ خشک مادون قرمز و آبزدایی همزمان برش های سیب با روش حرارت دهی متناوب حسن صباغی - امان محمد ضیائی فر - مهدی کاشانی نژاد
- 803 ارزیابی اثر نایسن، استات سدیم و دما بر کیفیت فیله کپور علفخوار تلقیح شده با استافیلوکوکوس اورئوس نادر چراغی - ابراهیم علیزاده دوغیکلایی - محسن شهریارى مقدم
- 817 اثر عصاره گل انار و ویتامین B بر روی ماندگاری و خواص حسی دونات سرخ شده مهین حیدری اشکذری - مانیا صالحی فر
- 829 ارزیابی فعالیت ضد میکروبی دو سویه لاکتوباسیلوس ایزوله شده از پنیر سنتی متال بر زمان ماندگاری دوغ سعید افضلی - محمدرضا عدالتیان دوم - محمدباقر حبیبی نجفی - مصطفی مظاهری تهرانی
- 847 تأثیر فرایند اکستروژن و شرایط انجماد بر کیفیت خمیر منجمد و کوکی تهیه شده از آرد سورگوم نسیم حسن پور - محبت محبی - آرش کوچکی - الناز میلانی
- 865 اثر ترکیب خوراک و متغیرهای فرایند بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی کف های جامد تشکیل شده از نشاسته ذرت و دانه کنجد به روش اکستروژن شهرام بیرقی طوسی - محبت محبی - مهدی وریدی

- 877 بهینه‌یابی فرآیند خشک کردن لایه نازک گلبزرگ زعفران به منظور حفظ ترکیبات زیست‌فعال با استفاده از روش سطح پاسخ
پروین شرایعی - حسین چاجی
- 891 ارزیابی اثر متغیرهای ترکیب خوراک و دمای اکستروژن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی اسنک بر پایه آرد جو و تقاله هویج
سرور لطفی شیرازی - آرش کوچکی - الناز میلانی - محبت محبی
- 907 تولید و بهینه‌سازی ویژگی‌های نانوکامپوزیت زیست‌تخریب‌پذیر کیتوزان/نانوفیبر آلی حاوی اسانس‌های مرزنجوش بخارایی و زنیان
و کاربرد آن بر پایداری اکسیداتیو روغن کلزا
عیسی جاهد - هادی الماسی - محمد علیزاده خالدآباد
- 929 بهینه‌سازی تولید نانوکمپلکس‌های پروتئین آب پنیر - پکتین جهت ریزبوشانی روغن پوست پرتقال براساس پایداری، رنگ و
ویسکوزیته
ساناز قاسمی - سید مهدی جعفری - مرتضی خمیری - الهام اسدپور



مقایسه تنوع میکروبی دوغ گوسفندی عشایر ناحیه سومار به کمک روش‌های نسل جدید توالی‌یابی و مولکولی وابسته به کشت

نفیسه دعوتی^{1*} - شهره حسامی²

تاریخ دریافت: 1396/09/20

تاریخ پذیرش: 1397/01/20

چکیده

برخی مردم نگران مصرف مواد غذایی ارگانیکی هستند که احتمالاً توسط ریزسازواری‌های بیماری‌زا آلوده شده‌اند، زیرا برخی از این مواد غذایی تحت شرایط بهداشتی ضعیف تولید می‌شوند. هدف از این مطالعه ارزیابی کیفیت بهداشتی دوغ گوسفندی از عشایر سومار و شناسایی کل جامعه میکروبی آن به‌خصوص باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشد. مجموع 40 باکتری اسید لاکتیک از 3 نمونه دوغ گوسفندی جدا گردید. این جدایه‌ها براساس روش مولکولی وابسته به کشت، توسط تکثیر ژن 16S rRNA با پرایمرهای یونیورسال 27F و 1492R و توالی‌یابی، به‌صورت *Lactobacillus apis* 20%، *Lactobacillus ultunensis* 10%، *Pediococcus argentinicus* 10% و *Lactobacillus delbrueckii* 40% شناسایی گردیدند. این شناسایی توسط روش مولکولی مستقل از کشت براساس نسل جدید توالی‌یابی آمپلیکون‌های ژن 16S ribosomal RNA کامل شد. نواحی V3 و V4 از ژن 16S rRNA تکثیر شد و توسط پلتفرم Illumina MiSeq توالی‌یابی گردید. این داده‌ها با نرم‌افزار BaseSpace و بانک اطلاعاتی greengenes آنالیز گردید. جامعه میکروبی دوغ گوسفندی برپایه نسل جدید توالی‌یابی در سطح جنس به‌صورت *Lactobacillus* 94/08%، *Alkalibacillus* 0/11%، *Candidatus Blochmannia* 0/11%، *Enterococcus* 0/20%، *Streptococcus* 0/33%، *Pediococcus* 0/06%، *Cohnella* 3/02% و باکتری غیرقابل طبقه‌بندی شناسایی شدند. در سطح گونه به‌صورت *Lactobacillus equicursoris* 24/82%، *Lactobacillus ultunensis* 2/79%، *Lactobacillus apis* 3/61%، *Lactobacillus delbrueckii* 51/81%، *Lactobacillus gigeriorum* 0/85%، *Pediococcus argentinicus* 0/42% و *taiwanensis* 13/64% باکتری غیرقابل طبقه‌بندی شناسایی شدند. روش نسل جدید توالی‌یابی در شناسایی تنوع میکروبی دوغ صحیح‌تر و بهتر شناخته شد. نتایج نشان داد دوغ گوسفندی عشایر سومار از کیفیت ضعیف بهداشتی برخوردار است اما هیچ باکتری بیماری‌زایی در این محصول شناسایی نگردید.

واژه‌های کلیدی: نسل جدید توالی‌یابی، دوغ، گوسفند، عشایر

مقدمه

دل طبیعت به‌دست آورد، عشایر به دلیل اصرار در حفظ شیوه زندگی به‌مانند گذشتگان خود، اجازه به ورود تکنولوژی صنعتی در زندگی خود نداده و سنت‌های قدیمی به‌خصوص آداب غذایی خود را حفظ کرده‌اند و به ندرت می‌توان ردپایی از غذاهای صنعتی در زندگی آن‌ها یافت. یکی از محصولات غذایی اصلی آن‌ها محصولات لبنی نظیر پنیر، ماست، کره، دوغ، کشک و غیره می‌باشد. عشایر بسیاری از تولیدات دامی و لبنی خود را برای فروش به شهر می‌برند و مردم ساکن در شهر و همچنین بسیاری مسافران بازدیدکننده از مناطق عشایری از طرفداران این محصولات ارگانیکی محسوب می‌شوند. اما در کنار غنی بودن فراورده‌های لبنی عشایری از سویه‌های بومی کشور و عدم استفاده از کشت‌های آغازگر وارداتی، نگرانی اصلی مردم از کیفیت پایین بهداشتی این محصولات می‌باشد. زیرا عشایر بدون استفاده از ابزار و تکنولوژی صنعتی و بدون رعایت استانداردهای بهداشتی،

باتوجه به افزایش بیماری‌های ناشی از مصرف محصولات غذایی صنعتی به دلیل استفاده بی‌رویه و نامناسب از رنگهای خوراکی، اسانس‌های شیمیایی، نگهدارنده‌ها و سایر افزودنی‌های شیمیایی، مردم تمایل زیادی به مصرف محصولات ارگانیکی پیدا کرده‌اند. اغلب این محصولات را می‌توان از مردم مناطق روستایی و عشایر ساکن در

1- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی بهار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

2- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

(*) نویسنده مسئول: (Email: n.davati@basu.ac.ir)

DOI: 10.22067/ifstrj.v14i5.69335

محصولات لبنی خود را به صورت سنتی تولید می کنند.

باکتری های اسیدلاکتیک اهمیت زیادی در فراورده های تخمیری دارند و فعالیت های متابولیکی آن ها منجر به تولید مواد فرار موثر در توسعه طعم، آروما و بافت شده و همچنین باعث افزایش زمان ماندگاری فراورده های لبنی می شوند (Khedid *et al.*, 2009). برخی از باکتری های اسیدلاکتیک پروبیوتیک بوده و می توانند به دلیل فعالیت های ضدتوموری، کاهش کلسترول سرم، درمان نقص عدم تحمل لاکتوز، تحریک سیستم ایمنی و تثبیت فلور میکروبی دستگاه گوارش اثرات مفید بر سلامت انسان باشند (Ashmaig *et al.*, 2009). اکثر فراورده های لبنی تخمیری بومی هر منطقه دارای فلور میکروبی ویژه منحصر به خود می باشند و همین تفاوت ها باعث ایجاد تنوع در رایحه و طعم آن ها شده است. برای حفظ خواص ارگانولپتیکی محصولات لبنی تخمیری هر منطقه باید باکتری های اسید لاکتیک ذاتی محصولات بومی آن شناسایی شوند. از این رو با توجه به اهمیت فلور میکروبی هر محصول تخمیری در ایجاد خواص حسی (طعم، عطر و بافت)، ضدباکتریایی، درمانی، پروبیوتیکی و همچنین شناسایی ذخایر ژنتیکی با ارزش کشور بهتر است مطالعات مربوطه در مناطق بکر، نظیر عشایر که حاوی جوامع کاملاً سنتی می باشند، متمرکز شود. روش های شناسایی سویه های میکروبی شامل روش های فنوتیپی (بر اساس خصوصیات فیزیولوژی، مورفولوژی و تست های بیوشیمیایی) و مولکولی (بر اساس نوای ژنتیکی عمدتاً ژن ناحیه 16S rRNA) می باشد. امروزه می توان از مطالعات متاژنومیکس بر پایه تکنیک های نسل جدید توالی یابی¹ به عنوان جدیدترین روش های شناسایی مولکولی به منظور بررسی بهتر فیلوژنتیکی و تنوع متابولیکی ریزسازواره بهره برد. در گذشته درک صحیح از تنوع میکروبی نمونه های مورد مطالعه براساس تکنیک های وابسته به کشت بسیار مشکل و طاقت فرسا بود. اغلب این تکنیک ها براساس کلونینگ و توالی یابی ژن 16S (rDNA) ribosomal RNA توسط طیف وسیعی از پرایمرهای PCR انجام می گیرد (Nossa *et al.*, 2010). با پیشرفت های اخیر در توالی یابی موازی به صورت گسترده، محققین قادر شدند تا به طور مستقیم آمپلیکون های PCR خود را توالی یابی کنند (Mardis, 2008; Armougom and Raoult, 2009).

با استفاده از تکنیک نسل جدید توالی یابی جهت آنالیز جوامع میکروبی می توان مطالعه دقیق تر و کامل تری از دینامیک میکروبی محصولات تخمیری به دست آورد (Bokulich and Mills, 2012). هدف از این مطالعه ارزیابی کیفیت بهداشتی دوغ تولیدی از شیر گوسفندی عشایر سومار واقع در منطقه قصر شیرین، پیگیری احتمال وجود باکتری های بیماری زا، شناسایی سویه های بومی منطقه سومار و بررسی وجود باکتری های پروبیوتیک در آن با استفاده از تکنیک

متاژنومیکس بر پایه نسل جدید توالی یابی جهت شناسایی دقیق و کامل جامعه میکروبی آن می باشد. زیرا این روش اطلاعات کاملی از کل جامعه میکروبی، میزان غالب بودن هر یک از جنس ها و گونه های موجود را ارائه می دهد. انتظار می رود در این مطالعه توسط تکنیک NGS بتوان درک بهتر و کاملتری از جامعه میکروبی دوغ عشایر سومار ایران به عنوان یک محصول کاملاً ارگانیک پیدا کرد.

مواد و روش ها

سه نمونه دوغ گوسفندی از عشایر منطقه سومار تحت شرایط استریل جمع آوری و در دمای 4 درجه سانتی گراد به آزمایشگاه انتقال داده شد. هر نمونه در آب پیتونه تا رقت 10^{-7} رقیق سازی گردید و سپس جهت شناسایی فلور لاکتیکی نمونه تا سطح جنس از رقت های مختلف در محیط های MRS آگار، M17 آگار و KAA آگار کشت گردیدند و توسط گازپک نوع A در جاربیهوای در دمای 37 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت گرمخانه گذاری شدند. سپس هر کلنی متفاوت از لحاظ رنگ، اندازه، تحب، تقعر و شکل، توسط کشت خطی تا 3 مرحله خالص سازی گردیدند. پس از انجام تست کاتالاز و رنگ آمیزی گرم برای هر کلنی، جدایه های گرم مثبت و کاتالاز منفی به عنوان جدایه مشکوک به باکتری اسید لاکتیک در نظر گرفته شدند (Harrigan Harold, 1998; Benson, 1967).

شناسایی فنوتیپی جدایه ها در سطح جنس

آزمایش های بیوشیمیایی جهت تشخیص تا سطح جنس برای کلیه جدایه ها به صورت زیر صورت گرفت: بررسی رشد در دو دمای 10°C و 45°C. در دو غلظت 6/5% و 18% کلرور سدیم، در pH=9/6 و pH=4/4، بررسی تولید گاز دی اکسید کربن از قند گلوکز در محیط برات MRS اصلاح شده حاوی لوله دورهام جهت تشخیص هومو و هتروفرمنتاتیو بودن (Salminen & Von Wright, 2004). به منظور بررسی هیدرولیز آرژنین توسط جدایه ها، از محیط ردی برات استفاده شد (Cardinal *et al.*, 1997).

شناسایی مولکولی وابسته به کشت جامعه میکروبی نمونه دوغ

گوسفندی

استخراج DNA

جهت استخراج DNA، کلنی خالص از هر جدایه در 100 µl آب استریل تعلیق سازی شد و سپس 100 µl از الکل ایزوآمیل/کلروفرم (24/1) اضافه گردید و بعد از مخلوط کردن به مدت 5 ثانیه، در 16000 g به مدت 5 دقیقه سانتریفوژ شد. سپس از فاز آبی بالا به عنوان منبع DNA و الگو برای واکنش PCR استفاده گردید (Ruiz-Barba *et al.*, 2005).

دانشگاه گولف کانادا⁹ ارسال گردید و کلیه مراحل توالی‌یابی NGS براساس پرتوکل Illumina sequencing و با انجام دو PCR مطابق مراحل زیر انجام گردید:

الف) تهیه 16S DNA Library

تهیه 16S DNA Library از نمونه DNA دوج گوسفندی بر اساس پرتوکل 16S metagenomic sequencing library (Illumina) protocol انجام گردید. PCR اول با پرایمرهای نشان داده در زیر جهت تکثیر نواحی V3 و V4 از ژن 16S rRNA برای آمپلیکون به اندازه 460 bp در 3 تکرار انجام شد.

Forward Primer:

TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACA
GCCTACGGGNGGCWGCAG

Reverse Primer:

GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACA
GGACTACHVGGGTATCTAATCC

آداپتور Overhang به توالی‌های جفت پرایمر جهت سازگاری با Illumina index الحاق گردید. توالی‌های آداپتور Illumina overhang به شرح زیر می‌باشد.

Forward overhang:

5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGAC
AG-[locus-specific sequence]

Reverse overhang:

5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGA
CAG-[locus-specific sequence].

ب) انجام Amplicon PCR

واکنش PCR به‌وسیله مخلوط کردن 2/5 μl (5 ng/μl) از DNA مخلوط میکروبی، 5 μl از هریک از پرایمرهای اشاره شده در بالا (با غلظت 1 μM) و 12/5 μl از 2x KAPA HiFi hotstart readymix به‌وسیله دستگاه ترموسایکلر با برنامه دمایی شامل مرحله فعال‌سازی در دمای 95°C به مدت 3 دقیقه، 25 سیکل مراحل واسرشته‌سازی در 95°C به مدت 30 ثانیه، اتصال در 55°C به مدت 30 ثانیه، توسعه در 72°C به مدت 30 ثانیه، و در نهایت مرحله توسعه نهایی در 72°C به مدت 5 دقیقه برای هر نمونه در 3 تکرار به همراه نمونه کنترل انجام گردید.

ج) انجام Index PCR

بعد از تمیزسازی محصول PCR، شاخص‌های دوگانه¹⁰ و Nextera XT Index Illumina توسط کیت Nextera XT Index Illumina به آن الحاق گردید. لیستی از توالی شاخص‌های مورد استفاده در جدول 1 نشان داده شده است. واکنش PCR به حجم 50 μL حاوی

انجام عملیات PCR جهت تکثیر ناحیه ژن 16S rRNA و ژل الکتروفورز

پرایمرهای Universal جهت تکثیر ژن 16S rRNA شامل B27F و U1492R (Bioneer، کره) به‌صورت زیر بودند:

Forward:

B27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')

Reverse:

U1492R (5'-ACGTGGTTTGAAGAGATTTTCG-3')

واکنش PCR به‌وسیله مخلوط کردن 2 μl از DNA هر جدایه، 16 μl آب استریل فاقد آنزیم DNase (سیناکلون، ایران)، 1 μl از هریک از پرایمرهای B27F و U1492R (غلظت 10 picomole/μl) با کیت خشک 2X PCR Master (Intron، کره) به‌وسیله دستگاه ترموسایکلر با پروفایل برنامه دمایی زیر انجام گردید.

فعال‌سازی¹ در 95°C به مدت 5 دقیقه، 35 سیکل مراحل واسرشته‌سازی² در 94°C به مدت 30 ثانیه، اتصال³ در 50°C به مدت 45 ثانیه و توسعه⁴ در 72°C به مدت 2 دقیقه، در نهایت توسعه نهایی⁵ در 72°C به مدت 10 دقیقه انجام گردید. الکتروفورز به مدت 30 دقیقه با ولتاژ 95 ولت انجام شد. سپس ژل در دستگاه ژل داک⁶ قرار داده شد و تشکیل باند 1500 bp بررسی شد (Alegria et al., 2009).

عملیات توالی‌یابی توسط شرکت ماکروژن کره انجام شد. توالی خوانش شده با توالی‌های موجود در بانک اطلاعاتی ژن⁷ با کمک برنامه بلاست⁸ در سایت <http://www.NCBI.nlm.nih.gov> مقایسه گردید. جدایه‌هایی با 98% مشابهت یا بیش از آن در توالی به‌عنوان همانگونه شناسایی شدند.

شناسایی مولکولی مستقل از کشت جامعه میکروبی نمونه دوج گوسفندی

استخراج DNA کل از نمونه دوج گوسفندی

استخراج DNA از نمونه توسط کیت DNeasy @Blood & Tissue Kit شرکت QIAGEN انجام گردید.

شناسایی مولکولی به روش Next generation sequencing

DNA از نمونه دوج گوسفندی جهت توالی‌یابی به روش (NGS) Next generation sequencing به مرکز آنالیز ژنومیکس پیشرفته

- 1 Activation
- 2 Denaturation
- 3 Annealing
- 4 Extension
- 5 Final extension
- 6 Gel doc
- 7 Gen Bank
- 8 Blast

9 Genomics Facility , Advanced Analysis Centre, University of Guelph
10 dual indices

25µl از 2x KAPA HiFi hotstart readymix و 5µl از DNA،
5µl از هریک از پرایمرهای 1 Nextera XT و 1 Nextera XT index
2 و 10µl آب با درجه PCR به وسیله دستگاه ترموسایکلر با
برنامه دمایی شامل مرحله فعال سازی در دمای 95°C به مدت 3 دقیقه،
8 سیکل مراحل واسرشته سازی در 95°C به مدت 30 ثانیه،
اتصال در 55°C به مدت 30 ثانیه، توسعه در 72°C به مدت 30 ثانیه،
و در نهایت مرحله توسعه نهایی در 72°C به مدت 5 دقیقه انجام
گردید.

جدول 1- لیست توالی های index مورد استفاده در نسل جدید توالی یابی

Index 1 (i7) Sequence	Index 2 (i5) Sequence
N701 TAAGGCGA	S501 TAGATCGC
N702 CGTACTAG	S502 CTCTCTAT
N703 AGGCAGAA	S503 TATCCTCT
N704 TCCTGAGC	S504 AGAGTAGA
N705 GGAATCCT	S505 GTAAGGAG
N706 TAGGCATG	S506 ACTGCATA
N707 CTCTCTAC	S507 AAGGAGTA
N708 CAGAGAGG	S508 CTAAGCCT
N709 GCTACGCT	
N710 CGAGGCTG	
N711 AAGAGGCA	
N712 GTAGAGGA	

نتایج و بحث

شناسایی فنوتیپی جامعه لاکتیکی دوغ گوسفندی عشایر سومار
بر اساس شناسایی اولیه (مشاهده میکروسکوپی و تست کاتالاز)
40 جدایه میکروبی مشکوک به جدایه لاکتیکی شناسایی شدند. که در
مرحله بعد توسط تست های بیوشیمیایی و فیزیولوژی به صورت
Lactobacillus و Pediococcus در سطح جنس طبقه بندی شدند
(جدول 2).

نمونه ای از تشکیل محصول PCR حاصل از تکثیر ژن 16S
rRNA برخی جدایه های لاکتیکی دوغ گوسفندی در شکل 1 نشان
داده می شود.

نتایج شناسایی مولکولی حاصل از توالی یابی در ناحیه 16S
rRNA gene در جدول 3، نشان داده می شوند.

توالی یابی MiSeq Illumina

این توالی یابی در مرکز آنالیز پیشرفته ژنومیکس دانشگاه گولف،
کشور کانادا صورت گرفت.

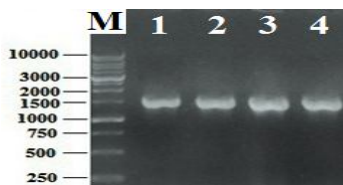
تجزیه و تحلیل آماری داده ها

داده های خام توالی یابی شده به روش NGS توسط cloud-
based software, 2016 Illumina, MSR; Metagenomics, version; 2.4.60.8
مورد آنالیز قرار گرفت. آنالیز
متاژنومیکس بر روی داده های 16S rRNA از ناحیه آمپلیکون V3 و
V4، آرگانیزم ها را به کمک پایگاه داده Greengenes رده بندی کرد.
نتایج طبقه بندی ریزسازواره ها در سطوح سلسله، رده، راسته، خانواده،
جنس و گونه به صورت جداول و به شکل گرافیکی ارائه گردید.
میانگین و نوار خط از درصد فراوانی نسبی گونه های باکتریایی از دوغ
گوسفندی توسط نرم افزار Microsoft Excel 2010 حاصل گردید.

جدول 2- خصوصیات فنوتیپی باکتری های اسید لاکتیک جدا شده از شیر گوسفندی در سطح جنس

Non-lactic acid bacteria genus	Lactobacillus	Pediococcus	جنس
8/5 %	88%	3/5 %	فراوانی نسبی
	باسیلی	کوکسی	مورفولوژی
	±	-	تولید CO ₂ از
			گلوکز
			رشد در
	±	±	10°C
	±	±	45°C
	±	±	6.5% NaCl
	±	+	pH 4.4
	-	-	pH 9.6

+ نشانه رشد؛ - نشانه عدم رشد؛ ± بین گونه ها متفاوت است نتایج شناسایی مولکولی وابسته به کشت جامعه میکروبی دوغ گوسفندی عشایر سومار



شکل 1- ژن تکثیر شده 16S rRNA از برخی جدایه‌های مورد مطالعه. ردیف‌های 1، 2، 3 و 4 محصول PCR و M مارکر 1000bp

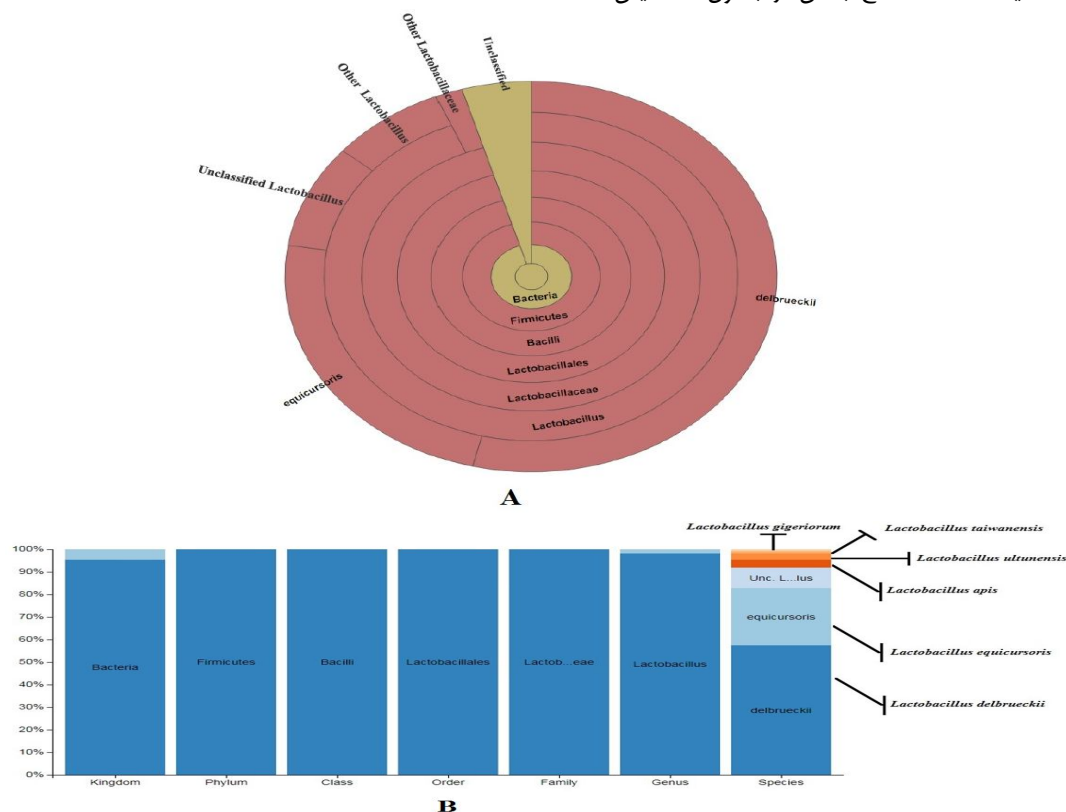
جدول 3- نتایج شناسایی جدایه‌های دوغ گوسفندی.

کد جدایه	نزدیک ترین خویشاوند شناسایی شده	درصد شباهت در شناسایی
40-39-38-37-36-35-34-32-21-13-12-11-9-5-2-1	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	100
33-18-31-27-17-15-6-4	<i>Lactobacillus apis</i>	99
30-24-19-16	<i>Lactobacillus ultunensis</i>	100
26-25-10-3	<i>Pediococcus argentinicus</i>	99
29-28-23-22-20-14-8-7	جدایه‌های شناسایی نشده	

می‌شود. همچنین، سهم جنس لاکتوباسیلوس و تنوع گونه‌های آن به‌عنوان جنس غالب در دوغ گوسفندی در بین سایر گونه‌های باکتریایی از سلسله تا گونه به شکل چارت خورشیدی (A) و چارت نواری (B) که توسط آنالیز NGS به‌دست آمده است در شکل 2 در یک نگاه کلی به‌خوبی قابل مشاهده است.

شناسایی مولکولی مستقل از کشت جامعه میکروبی دوغ گوسفندی عشایر سومار

در کل 217/395، 274/690 و 217/008 خوانش خام از توالی‌یابی illumine توسط Miseq platform در سه تکرار حاصل گردید. نتایج یک تکرار آنالیز مولکولی مستقل از کشت فلور میکروبی نمونه دوغ توسط تکنیک NGS تا سطح جنس در جدول 4 نمایش داده



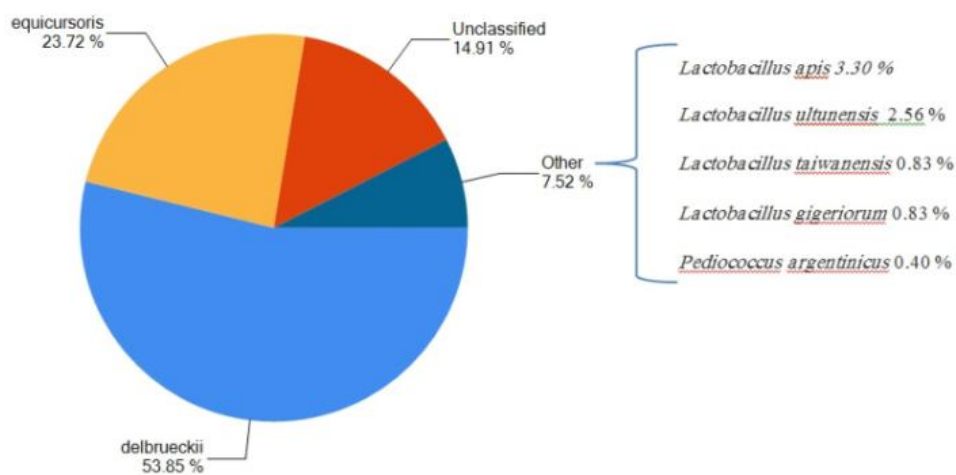
شکل 2- چارت خورشیدی از فراوانی نسبی جامعه میکروبی غالب دوغ گوسفندی (A) و چارت میله‌ای 20 باکتری شاخص دوغ گوسفندی (B)

جدول 4- نتایج طبقه‌بندی باکتری‌های دوغ گوسفندی در سطوح تاکسونومیک تا سطح جنس توسط تکنیک NGS

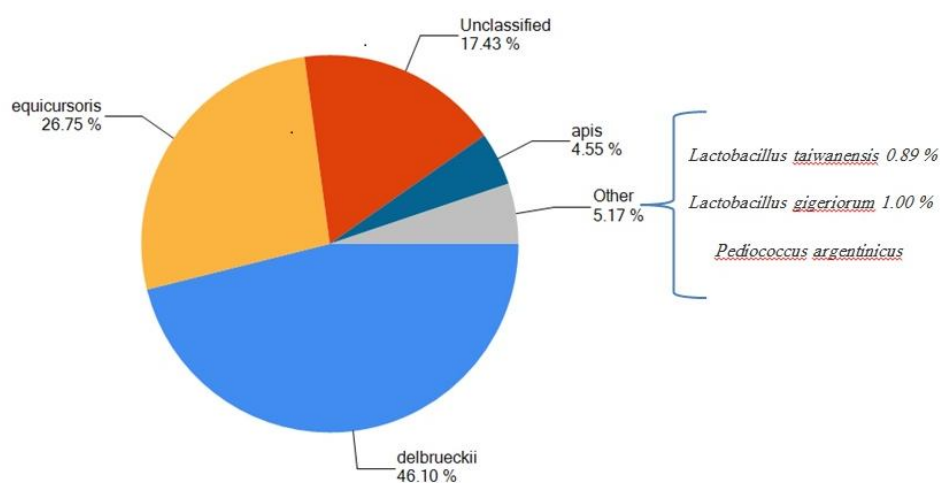
Sequencing Statistics			Top Kingdom Classification Results		
Total Reads	Reads Passing Quality Filtering	% Reads Passing Quality Filtering	Classification	Number of Reads	% Total Reads
217,395	183,531	84.4 %	Bacteria	183,381	99.92 %
			Unclassified at Kingdom level	147	0.08 %
			Viruses	3	0.00 %
Classification Rate Summary			Top Phylum Classification Results		
Taxonomic Level	Reads Classified to Taxonomic Level	% Total Reads	Classification	Number of Reads	% Total Reads
Kingdo	183,384	99.92 %	Firmicutes	181,401	98.84 %
Phylum	182,924	99.67 %	Proteobacteria	1,103	0.60 %
Class	182,646	99.52 %	Unclassified at Phylum level	607	0.33 %
Order	182,192	99.27 %	Actinobacteria	142	0.08 %
Family	181,555	98.92 %	Bacteroidetes	131	0.07 %
Genus	177,988	96.98 %	Tenericutes	62	0.03 %
Species	159,433	86.87 %	Verrucomicrobia	21	0.01 %
Top Class Classification Results			Thermodesulfobacteria	13	0.01 %
Classification	Number of Reads	% Total Reads	Top Order Classification Results		
Bacilli	180,798	98.51 %	Classification	Number of Reads	% Total Reads
Unclassified at Class level	885	0.48 %	Lactobacillales	179,597	97.86 %
Gammaproteobacteria	773	0.42 %	Unclassified at Order level	1,339	0.73 %
Clostridia	366	0.20 %	Bacillales	855	0.47 %
Actinobacteria	141	0.08 %	Enterobacteriales	402	0.22 %
Betaproteobacteria	131	0.07 %	Clostridiales	284	0.15 %
Alphaproteobacteria	111	0.06 %	Actinomycetales	103	0.06 %
Sphingobacteriia	85	0.05 %	Pseudomonadales	91	0.05 %
Top Family Classification Results			Chromatiales	89	0.05 %
Classification	Number of Reads	% Total Reads	Top Genus Classification Results		
Lactobacillaceae	177,860	96.91 %	Classification	Number of Reads	% Total Reads
Unclassified at Family level	1,976	1.08 %	Lactobacillus	172,659	94.08 %
Streptococcaceae	616	0.34 %	Unclassified at Genus level	5,543	3.02 %
Enterococcaceae	410	0.22 %	Pediococcus	1,962	1.07 %
Bacillaceae	409	0.22 %	Streptococcus	611	0.33 %
Enterobacteriaceae	402	0.22 %	Enterococcus	360	0.20 %
Paenibacillaceae	153	0.08 %	Candidatus Blochmannia	207	0.11 %
Clostridiaceae	127	0.07 %	Alkalibacillus	199	0.11 %
			Cohnella	108	0.06 %

نسبی گونه‌های غالب باکتری از این 3 تکرار به همراه نوار خطای آنها برای نمونه نشان داده می‌شود.

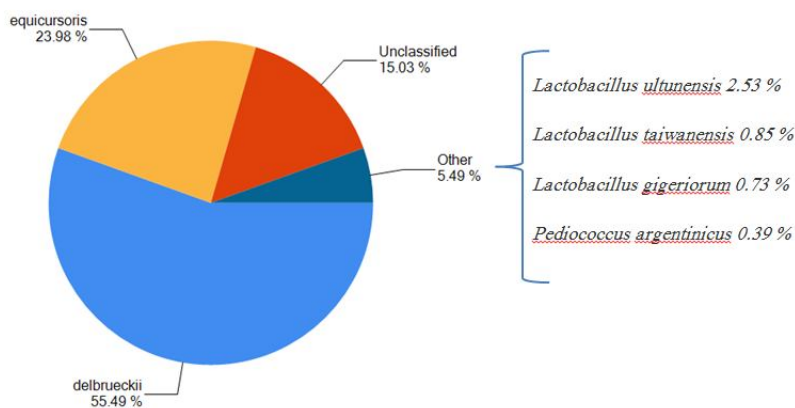
چون نتایج این مطالعه در 3 تکرار گزارش شده است در شکل 3 سهم هر گونه در هر تکرار و در شکل 4 نیز درصد میانگین فراوانی



نتایج برای تکرار 1

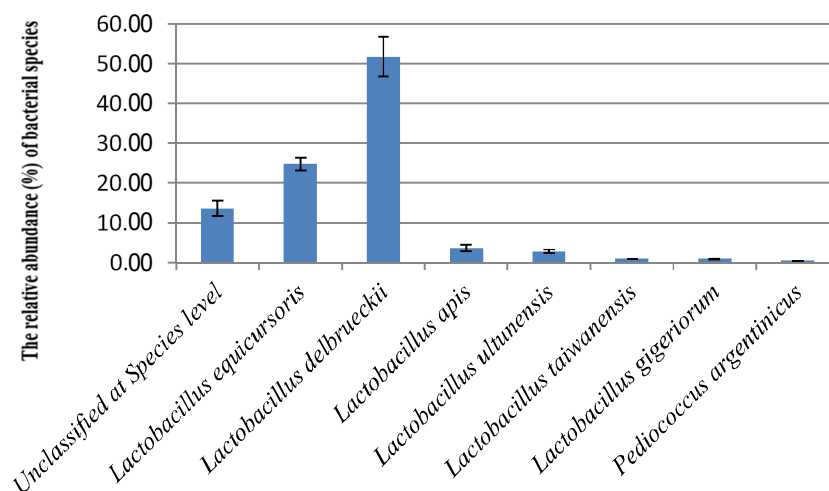


نتایج برای تکرار 2

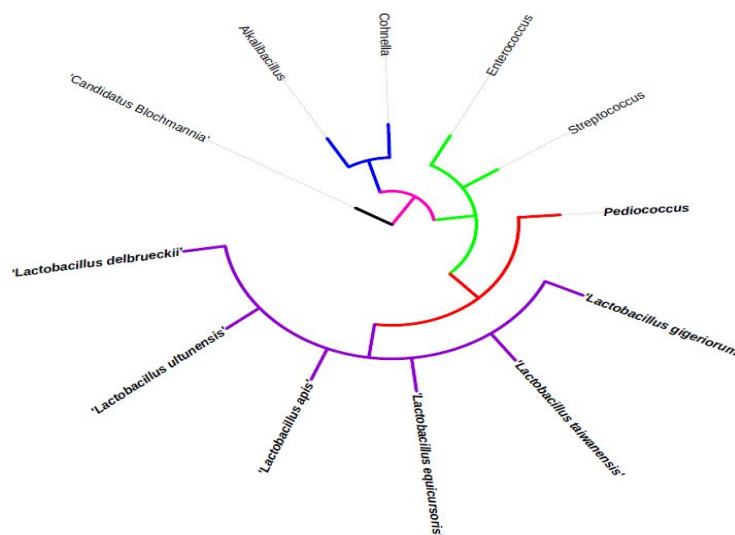


نتایج برای تکرار 3

شکل 3- نتایج طبقه‌بندی در سطح گونه جامعه میکروبی دوغ گوسفندی در 3 تکرار



شکل 4- فراوانی نسبی گونه‌های باکتری (%) در 3 تکرار از دوغ گوسفندی



شکل 5- درخت تکامل ژنتیکی براساس نسل جدید توالی‌یابی آمپلیکون ژن 16S rRNA از جامعه باکتریایی دوغ گوسفندی

جهت مقایسه دقت دو روش فنوتیپی شامل سیستم API50CHL (شامل تخمیر 49 کربوهیدرات در کنار هیدرولیز اسکولین) و روش بیولوژی (شامل یک پلیت منحصر به فرد برای گرم مثبت‌ها و گرم منفی‌ها جهت تخمیر 96 کربوهیدرات) با دو روش مولکولی توالی‌یابی 16S rDNA و Species specific PCR reactions برای تعدادی باکتری اسید لاکتیک مشخص انجام دادند. در این مطالعه قابلیت اعتماد به دو روش مولکولی مورد استفاده 100% بود و تست‌های فنوتیپی قابلیت اعتماد پایین‌تری نشان داده بطوری‌که برای دو روش بیولوژی و روش API50CHL به ترتیب 99/9 - 74 و 99/9 - 78/2% گزارش شد. به‌طور کلی روش‌های فنوتیپی دارای محدودیت‌ها و

درخت تکامل ژنتیکی برای گونه‌های شناسایی شده با بیشترین فراوانی از دوغ گوسفندی که براساس داده‌های حاصل از نسل جدید توالی‌یابی و با بهره‌گیری از دو سایت <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/CommonTree> و <http://www.cmt.cg> و <http://itol.embl.de/upload.cgi> حاصل گردید، در شکل 5 نشان داده می‌شود.

با توجه به مقایسه نتایج فنوتیپی و مولکولی در سطح جنس برخی موارد تناقض و عدم تطابق دیده می‌شود و نتایج توزیع تنوع ژنتیکی به روش مولکولی با روش فنوتیپی اختلاف دارد. البته نتایج شناسایی فنوتیپی به دلایل مختلفی از دقت پایین‌تری نسبت به شناسایی مولکولی برخوردار است. Moraes و همکاران در سال 2013 مطالعاتی

جامعه میکروبی محدودیت ایجاد می‌نماید. بنابراین روش‌های شناسایی مولکولی مستقل از کشت بسیار در این زمینه مفید می‌باشند. استفاده از دانش و ابزاری جامع به نام متاژنومیکس راه حل مناسب رفع این مشکل است. متاژنومیکس اجازه مطالعه اکولوژی میکروبی در سطح بسیار بالاتر و جزئی‌تر از قبل را می‌دهد. یکی از روش‌ها در هدف‌گیری ژن در متاژنومیکس PCR-DGGE است. با استفاده از روش DGGE، تشخیص بیماری‌های میکروبی و شناسایی ریز سازواره‌ها در مقیاس بزرگ می‌تواند ساده‌تر و سریع‌تر به‌دست آید (طباطبایی و پورمظاهری، 1391). امروزه در جدیدترین روش مطالعه متاژنومیکس بر پایه تکنیک‌های نسل جدید توالی‌یابی نیز می‌توان به‌منظور بررسی بهتر فیلوژنتیکی و تنوع متابولیکی ریزسازواره‌ها بهره برد. که هدف ما در این مطالعه نیز استفاده از تکنیک متاژنومیکس بر پایه نسل جدید توالی‌یابی جهت شناسایی دقیق و کامل جامعه میکروبی دوغ عشایر ایران بود. براساس این نتایج مولکولی، به دلیل عدم رعایت بهداشت توسط عشایر، در فلور غالب میکروبی دوغ گوسفندی علاوه بر جنس لاکتوباسیلوس (با بیشترین درصد فراوانی) و استرپتوکوکوس سایر جنس‌های لاکتیکی شامل *Pediococcus* و *Enterococcus* و همچنین جنس *Candidatus Blochmannia* از خانواده انتروباکتریاسه، جنس *Alkalibacillus* از خانواده باسیلاسه و جنس *Cohnella* از خانواده *Paenibacillaceae* شناسایی گردید. باوجود اینکه جنس‌های *Enterococcus*، *Candidatus Blochmannia*، *Alkalibacillus* و *Cohnella* به‌عنوان جنس‌های غالب در دوغ شناسایی گردیدند اما گونه‌های آن سهم چشمگیری در فلور غالب میکروبی نشان ندادند که می‌تواند به دلیل غالب شدن فلور لاکتوباسیلوسی و پدیوکوکوسی در ماست و دوغ و تولید باکتریوسین‌هایی توسط این دو جنس باشد که به‌دلیل طبیعت عملکردی باکتریوسین این ماده ضد میکروبی می‌تواند برعلیه گونه‌هایی با خویشاوندی نزدیک به باکتری‌های تولیدکننده خود عمل کند نظیر انتروکوکوس‌ها. بنابراین علت عدم رشد انتروکوکوس‌ها به‌صورت فلور غالب می‌تواند به دلیل حضور باکتریوسین‌های حاصل از جنس لاکتوباسیلوس و پدیوکوکوس باشد. براساس مطالعات گذشته گونه‌هایی از جنس *Alkalibacillus* از محیط‌های طبیعی قلبایی نظیر خاک‌های جنگلی غیرنمکی و حوضچه‌های معدنی جداسازی گردیدند (Usami et al., 2007; Romano et al., 2005).

گونه‌هایی از جنس *Cohnella* نیز از محیط‌های طبیعی نظیر تالاب‌های آتشفشانی، غدد ریشه گیاهان و ... جدا شده‌اند (Cho et al., 2007; García-Fraile et al., 2008). همچنین جنس *Candidatus Blochmannia* از مورچه چوب که زیستگاه اصلی آن جنگل و مناطق صحرایی حاوی چوب درختان می‌باشد جداسازی شده است (Feldhaar et al., 2007). بنابراین به دلیل ماهیت زندگی عشایر در طبیعت، حضور این

معایی در شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک هستند که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

تکرارپذیری ضعیف، تغییر شکل از حالت کروی به میله‌ای کوتاه در طی رشد و بالعکس (Moraes et al., 2013)، قدرت پایین تمایز (Mohania et al., 2008)، تأثیرپذیری واکنش آنزیمی در تخمیر کربوهیدرات‌ها وابسته به زمان و دمای گرمخانه‌گذاری (Ouahghiri et al., 2005) و عدم بیان برخی ژن‌ها (بعضی آنزیم‌های تخمیر کننده کربوهیدرات‌ها) در برخی باکتری‌ها که مرتبط با شرایط محیطی می‌باشد (Moraes et al., 2013).

همچنین اکثر باکتری‌های اسید لاکتیک نیازهای تغذیه‌ای مشابهی برای رشد خود داشته و نتایج شناسایی براساس روش‌های بیوشیمیایی در بسیاری موارد قطعی نبوده و می‌توانند نتایج یکسانی حاصل کنند (Moraes et al., 2013).

همچنین تفاوت‌هایی در نتایج شناسایی مولکولی مستقل از کشت و وابسته به کشت مشاهده گردید. براساس نتایج شناسایی وابسته به کشت براساس توالی‌یابی ناحیه 16S rRNA به‌ترتیب گونه‌های *Lactobacillus delbrueckii*، *Lactobacillus apis*، *Pediococcus argentinicus*، *Lactobacillus ultunensis* بیشترین فراوانی را نشان دادند. براساس جدول 3 و شکل 4 هر دو روش نتایج مشابهی در شناسایی گونه‌های *Lactobacillus delbrueckii*، *Lactobacillus apis* و *Pediococcus argentinicus* نشان دادند. اما روش وابسته به کشت قادر به شناسایی گونه‌های *Lactobacillus equicursoris*، *Lactobacillus taiwanensis*، *Lactobacillus ultunensis* و *Lactobacillus gigeriorum* نبود. احتمالاً این گونه‌های باکتریایی قادر به بازیافت از نمونه توسط کشت و تشکیل کلنی جهت استخراج DNA برای شناسایی مولکولی وابسته به کشت نبوده است.

به دلایل متعددی که در زیر اشاره می‌شود روش مولکولی مستقل از کشت نسبت به وابسته به کشت بیشتر مورد تأیید بوده و نتایج آن معرف بهتری از جامعه میکروبی نمونه می‌باشد. شناسایی باکتری‌ها به روش مولکولی وابسته به کشت که شامل کشت باکتری، سپس استخراج DNA از کلنی باکتری، انجام PCR و توالی‌یابی بر روی ژن‌های خاصی که معمولاً در ناحیه 16S rRNA قرار دارد دارای معایی است. از جمله اینکه به دلیل تنش‌های محیطی و حتی اختصاصی بودن برخی محیط‌های کشت، برخی باکتری‌ها ضعیف شده، یا از بین رفته و قادر به رشد بر روی محیط کشت، تشکیل کلنی و قابل شناسایی نمی‌باشند و مطالعات مشخص کرده است که اکثریت عظیمی از تنوع زیستی میکروبی بوسیله روش‌های بر پایه کشت از دست می‌روند و اطلاعات حاصل از شناسایی آن‌ها کامل نمی‌باشد. همچنین بسیاری از ریزسازواره‌ها را نمی‌توان در شرایط آزمایشگاه کشت داد که این موضوع در درک فیزیولوژی، ژنتیک و اکولوژی

جنس‌ها در محصولات تولیدی توسط آن‌ها بعید نمی‌باشد. در بین گونه‌های شناسایی شده در جنس لاکتوباسیلوس گونه *Lactobacillus delbrueckii* بیشترین فراوانی را نشان داد که به دلیل نقش کلیدی زیرگونه بولگاریکوس این گونه در تولید ماست از شیر است و چون دوغ از ماست، آب و نمک تولید می‌شود طبیعتاً در دوغ حضور آن با فراوانی بالا قابل انتظار است.

اما *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* باکتری کلیدی دیگر در تولید ماست محسوب می‌شود و به دنبال لاکتوباسیلوس باید در دوغ حاصل از ماست حضور چشمگیری داشته باشد، اما جزء گونه‌های با فراوانی بالا در نمونه گزارش نگردید و سهم جنس استرپتوکوکوس در نمونه دوغ بسیار پایین بود. از آنجاییکه از سالیانه گذشته مطالعات علمی حضور دو باکتری *Lactobacillus Streptococcus salivarius* و *delbrueckii subsp. Bulgaricus* را در تولید ماست از شیر تایید کرده است که باید فلور غالب را در ماست و دوغ حاصل از آن تشکیل دهد اما همانطور که در بالا اشاره گردید در این مطالعه تنها حضور *Lactobacillus delbrueckii* به عنوان یکی از فلورهای غالب میکروبی و جامعه لاکتیکی ماست تایید شد و سهم جنس استرپتوکوکوس تنها 0/33% بود. البته در برخی مطالعات انجام شده در دنیا بر روی محصولات تولیدی از ماست نظیر دوغ نیز مشابه این مطالعه حضور گونه *Lactobacillus delbrueckii* بدون حضور *Streptococcus salivarius* تایید شده است. Azadnia و Khan Nazer (2009) در تحقیقی که در شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک دوغ انجام دادند موفق به جداسازی گونه‌های زیر گردیدند. *Lactococcus lactis subsp. cremoris*; *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*; *Lactobacillus helveticus*; *Lactobacillus plantarum*; *Lactobacillus brevis*; *Lactobacillus casei subsp. casei*; *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*.

در مطالعه‌ای که Asmahan (2011) بر روی جداسازی و شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک دوغ از منطقه خارطوم سودان انجام داد موفق به شناسایی گونه‌های لاکتوکوکوس لاکتیس، لاکتوباسیلوس مزترورئیدس، لاکتوباسیلوس هلوتیکوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس برویس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس دلبروکی گردید. در مطالعه ما بعد از *Lactobacillus delbrueckii* گونه‌های *Lactobacillus equicursoris*، *Lactobacillus apis*، *Lactobacillus ultunensis* و *Lactobacillus gigeriorum* و همچنین گونه *Pediococcus argentinicus* از جنس پدیوکوکوس به ترتیب بیشترین فراوانی را نشان دادند. در پژوهش حاضر، گونه نادری از پدیوکوکوس به نام *Pediococcus argentinicus* که اولین بار در سال 2008 از گندم تخمیر شده آرژانتینی

گزارش شد نیز شناسایی گردید (De Bruyne et al., 2008). همچنین *Lactobacillus gigeriorum* و *Lactobacillus taiwanensis* در دوغ یا احتمالاً ماست اولیه نیز فرصت رشد پیدا کرده به طوریکه جزء فلور غالب شناسایی شدند که می‌تواند به دلیل حضور این گونه‌ها در مایه ماست اضافه شده به شیر و قابلیت رشد این گونه‌ها در شرایط محیطی ایجاد شده حاصل از تخمیر و عدم رعایت شرایط بهداشتی تولید ماست و در نهایت دوغ حاصل از آن دانست. علاوه بر *Pediococcus argentinicus* تمام گونه‌های شناسایی شده غیر از *Lactobacillus delbrueckii* نیز جزء گونه‌های تازه کشف شده لاکتیکی محسوب می‌شوند نظیر *Lactobacillus taiwanensis* که اولین بار به عنوان گونه جدید توسط Wang در سال 2009 از یونجه جدا گردید. که دلیل حضور این گونه در دوغ گوسفندی عشایر نیز می‌تواند به دلیل عدم رعایت بهداشت عشایر در نگهداری مایه ماست، فراوری ماست و دوغ حاصل از آن باشد. گونه نوظهور دیگر که به تازگی توسط Gulat-Okalla و همکاران (2012) از جوجه جدا گردید *Lactobacillus gigeriorum* است که از دوغ عشایر نیز جدا گردید و می‌تواند ناشی از انتقال آلودگی از محل نگهداری طیور به ماست یا شیر باشد. *L. apis* نیز به عنوان یک گونه نوظهور اولین بار توسط Killer و همکارانش (2014) از معده زنبور عسل جدا گردید و بنابراین حضور این گونه در دوغ عشایر می‌تواند به دلیل همجواری زیستگاه زنبور عسل و محل زندگی عشایر که معمولاً صحرا و دامنه کوه است بعید نباشد (Killer et al., 2014).

در ارتباط با گونه *L. ultunensis* شناسایی شده در دوغ عشایر براساس مطالعات انجام شده در دنیا جداسازی آن از موکوس معده گزارش شده است (Goldstein et al., 2015; Roos et al., 2005).

Lactobacillus equicursoris به عنوان یک گونه جدید ابتدا توسط Morita و همکارانش (2010) از مدفوع اسب جدا گردید. که حضور آن در دوغ عشایر می‌تواند همانطور که قبلاً اشاره گردید به دلیل بهداشت ضعیف این عشایر در نگهداری مایه ماست و انتقال آلودگی از اسب‌های حاضر در محل زندگی آن‌ها باشد.

براساس مطالعات انجام شده، در بین گونه‌های شناسایی شده تنها *Lactobacillus delbrueckii* دارای فعالیت پروبیوتیکی می‌باشد و سایر گونه‌های موجود جزء باکتری‌های تازه شناسایی شده بوده و تاکنون تحقیقی مبنی بر فعالیت پروبیوتیکی آن‌ها انجام نشده است و پیشنهاد می‌شود مطالعاتی در این زمینه در آینده بر روی این گونه‌ها انجام شود. وجود ترکیب هتروژنی از فلور میکروبی لاکتیکی نامتداول در این محصول با حضور گونه‌های باکتریایی در آن که در مطالعات انجام شده در دنیا از محیط، اسب، زنبور و طیور جدا شده‌اند می‌تواند نشانه‌ای از کیفیت بهداشتی پایین این محصول باشد و حضور دو

کل جامعه میکروبی دارا بودند که قابل صرف نظر است. به طور کلی در این مطالعه آشکار شد که از نظر بهداشتی کیفیت دوغ عشایر سومار پایین بوده اما فلور میکروبی غالب آن خطر جدی برای سلامت انسان نخواهد داشت.

خانواده عامل ایجاد عفونت و مسمومیت شامل 0/22% Enterobacteriaceae و 0/07% Clostridiaceae در دوغ تایید شد که احتمال حضور گونه‌های بیماری‌زا از این دو خانواده در دوغ بعید نمی‌باشد اما به دلیل غالب بودن فلور لاکتیکی و کاهش pH محصول، این دو خانواده قدرت رشد نداشته و سهم بسیار ناچیزی در

منابع

- طباطبایی، م. و پورمظاهری، ه.، 1391، متاژنومیکس و کاربرد آن در شناسایی تنوع ژنتیکی اکوسیستم های میکروبی. فصلنامه ژنتیک نوین، 7 (4)، 324-313.
- Alegria, Á., Álvarez-Martín, P., Sacristán, N., Fernández, E., Delgado, S. & Mayo, B., 2009. Diversity and evolution of the microbial populations during manufacture and ripening of Casín, a traditional Spanish, starter-free cheese made from cow's milk. *International journal of food microbiology*, 136(1), 44-51.
- Armougom, F. & Raoult, D., 2009. Exploring microbial diversity using 16S rRNA high-throughput methods. *Journal of Computer Science and Systems Biology*, 2(1), 74-92.
- Ashmaig, A., Hasan, A. & Gaali El, E., 2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional Sudanese fermented camel's milk (Gariss). *African Journal of Microbiology Research*, 3(8), 451-457.
- Asmahan Azhari, A., 2011. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Drinking Yoghurt in Khartoum State, Sudan. *Current Research in Bacteriology*, 4, 16-22.
- Azadnia, P. & Khan Nazer, A. H., 2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional drinking yoghurt in tribes of Fars province. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 10 (3), 235-240.
- Benson Harold, J., 1967. Microbiological applications; a laboratory manual in general microbiology.
- Bokulich, N. A. & Mills, D. A., 2012. Next-generation approaches to the microbial ecology of food fermentations. *BMB reports*, 45(7), 377-389
- Cardinal, M. J., Meghrou, J., Lacroix, C. and Simard, R. E., 1997. Isolation of Lactococcus Lactis Strains Producing Inhibitory Activity against Listeria. *Food Biotechnology*. 11(2), 129-46.
- Cho, E.A., Lee, J.S., Lee, K.C., Jung, H.C., Pan, J.G. & Pyun, Y.R., 2007. Cohnella laeviribosi sp. nov., isolated from a volcanic pond. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(12), 2902-2907.
- De Bruyne, K., Franz, C., Vancanneyt, M., Schillinger, U., Mozzi, F., de Valdez, G. F., De Vuyst, L & Vandamme, P., 2008. *Pediococcus argentinicus* sp. nov. from Argentinean fermented wheat flour and identification of *Pediococcus* species by pheS, rpoA and atpA sequence analysis. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58, 2909-2916.
- Feldhaar, H., Straka, J., Berthold, K., Kruschke, M., Mueller, M.J., Gross, R. & Stoll, S., 2007. Nutritional upgrading for omnivorous carpenter ants by the endosymbiont Blochmannia. *BMC biology*, 5(1), 48.
- García-Fraile, P., Velazquez, E., Mateos, P.F., Martínez-Molina, E. & Rivas, R., 2008. Cohnella phaseoli sp. nov., isolated from root nodules of Phaseolus coccineus in Spain, and emended description of the genus Cohnella. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(8), 1855-1859.
- Goldstein, E. J., Tyrrell, K. L. & Citron, D. M., 2015. *Lactobacillus* Species: Taxonomic Complexity and Controversial Susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, 60 (2), S98-S107.
- Gulat-Okalla, M. L., Motreff, L., Gouyette, C., Bouchier, C., Clermont, D. & Bizet, C., 2012. *Lactobacillus gigeriorum* sp. nov., isolated from chicken crop Sylvie Cousin. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 330-334.
- Harrigan, W., 1998. Laboratory methods in food microbiology: Gulf Professional Publishing.
- Khedid, K., Faid, M., Mokhtari, A., Soulaymani, A. & Zinedine, A., 2009. Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. *Microbiological research*, 164(1), 81-91.
- Killer, J., Dubna, S., Sedlacek, I. & Švec, P., 2014. *Lactobacillus apis* sp. nov., from the stomach of honeybees (*Apis mellifera*), having an in vitro inhibitory effect on the causative agents of American and European foulbrood. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 152-157.
- Mardis, E. R., 2008. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends in genetics*, 24(3), 133-141.
- Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, M., Jain, S., Marotta, F., Singh, V., Parkash, O. & Yadav, H., 2008. Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of digestive Diseases*, 9(4), 190-198.
- Moraes, P. M., Perin, L. M., Silva, J. A. & Nero, L. A., 2013. Comparison of phenotypic and molecular tests to identify lactic acid bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1), 109-12.

- Morita, H., Shimazu, M., Shiono, H. & Hattori, M., 2010. *Lactobacillus equicursoris* sp. nov., isolated from the faeces of a thoroughbred racehorse. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 60(1), 109-12.
- Nossa, C. W., Oberdorf, W. E., Yang, L., Aas, J. A., Paster, B. J., DeSantis, T. Z. & Pei, Z., 2010. Design of 16S rRNA gene primers for 454 pyrosequencing of the human foregut microbiome. *World journal of gastroenterology: WJG*, 16(33), 4135.
- Ouadghiri, M., Amar, M., Vancanneyt, M. & Swings, J., 2005. Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben). *FEMS microbiology letters*, 251(2), 267-271.
- Romano, I., Lama, L., Nicolaus, B., Gambacorta, A. & Giordano, A., 2005. *Alkalibacillus filiformis* sp. nov., isolated from a mineral pool in Campania, Italy. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(6), 2395-2399.
- Roos, S., Engstrand, L. & Jonsson, H., 2005. *Lactobacillus gastricus* sp. nov., *Lactobacillus antri* sp. nov., *Lactobacillus kalixensis* sp. nov. and *Lactobacillus ultunensis* sp. nov., isolated from human stomach mucosa. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(1), 77-82.
- Ruiz-Barba, J.L., Maldonado, A. & Jiménez-Díaz, R., 2005. Small-scale total DNA extraction from bacteria and yeast for PCR applications. *Analytical biochemistry*, 347(2), 333-335.
- Salminen, S. & Von Wright, A. eds., 2004. *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. CRC Press. Marcel Dekker, 139, 73-103.
- Usami, R., Echigo, A., Fukushima, T., Mizuki, T., Yoshida, Y. & Kamekura, M., 2007. *Alkalibacillus silvisoli* sp. nov., an alkaliphilic moderate halophile isolated from non-saline forest soil in Japan. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(4), 770-774.
- Wang, L.T., Kuo, H.P., Wu, Y.C., Tai, C.J. & Lee, F.L., 2009. *Lactobacillus taiwanensis* sp. nov., isolated from silage. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(8), 2064-2068.



Comparison of microbial diversity of ewe's drinking yogurt from somar region nomads using Next-Generation Sequencing and culture dependent molecular methods

N. Davati^{1*}, S. Hesami²

Received: 2017.12.11

Accepted: 2018.04.09

Introduction: Nowadays, More people are interested in consuming organic products. Many of the organic foods and dairy products are produced by rural people and nomads in Iran. Some people are concerned about using of the contaminated organic foods with pathogenic microorganisms, because some of these organic foods are produced under poor hygienic conditions. On the other hand, many native strains of probiotic bacteria especially lactic acid bacteria can be found in these organic foods. In this study, the microbial community and sanitary quality of ewe's drinking yogurt produced by Somar region nomads, by using culture dependent molecular method and next-generation sequencing (NGS), as a new tool for the culture independent **molecular** characterization of bacteria, were assessed.

Materials and methods: A total of three Ewe's drinking yogurt samples were collected from the nomads of Somar region in Iran under sterile conditions. For phenotypic identification of lactic acid bacteria, a volume of 0.1 milliliters of appropriate dilutions was cultured on MRS agar and M17 agar media. The plates were incubated at 37°C under anaerobic condition with Anaerocult® A for 48 hours. Typical LAB characteristics colonies were purified by streaking method on MRS agar and M17 agar. The catalase negative and Gram positive isolates were selected as presumptive lactic acid bacteria for phenotypic identification to the genus level. These isolated bacteria were tested for growth at 10°C and 45°C in MRS and M17 broth, gas production from glucose, growth in the presence of 6.5% and 18% of NaCl, growth at pH 4.4 and pH 9.6 and arginine hydrolysis. Isolates were identified by amplification of the 16S ribosomal RNA gene by Polymerase Chain Reaction and ribosomal DNA sequencing as a culture dependent molecular method. After DNA extraction of isolates, PCR was performed using prokaryotic 16S rDNA universal primers 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') and 1492R (5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'). In the next step, the culture-independent molecular method based on next-generation sequencing of 16S ribosomal RNA gene amplicons was applied. The V3 and V4 regions of 16S ribosomal RNA gene were amplified using Forward Primer 5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG and Reverse Primer 5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC Overhang adapter sequences were appended to the primer pair sequences for compatibility with Illumina index and sequencing adapters. The Illumina overhang adapter sequences to be added to locus-specific sequences were: Forward overhang: 5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG- [locus- specific sequence] Reverse overhang: 5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-[locus- specific sequence]. Both contained an Illumina adapter region for sequencing on the Illumina MiSeq System. Then, Illumina sequencing on MiSeq was performed. The fastq files from the next generation sequencing were analyzed with BaseSpace (cloud-based software, MSR: Metagenomics, version: 2.4.60.8). This metagenomics analysis classified organisms from V3 and V4 amplicon using a database of 16S rRNA data and performed a taxonomic classification using the Greengenes database showing species level classification in a graphical format (<http://greengenes.lbl.gov/>). The analysis output was a classification of reads at several taxonomic levels: kingdom, phylum, class, order, family, genus, and species. The analysis results included tables, cluster pie charts, phylogenetic trees and bar charts. The average and error bars of the relative abundance (%) of bacterial species from ewe's milk and yogurt were calculated using Microsoft Excel 2010 software.

Results & Discussion: A total of 40 bacteria as lactic acid bacteria were isolated from ewe's drinking yogurt.

1. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University. Hamedan, Iran.

2. Assistant professor, Department of Biology, Faculty of Science, Bu-Ali Sina University. Hamedan, Iran.

(*-Corresponding Author Email: n.davati@basu.ac.ir)

Among isolated bacteria, two different genus of lactic acid bacteria were phenotypically characterized as 88% *Lactobacillus*, 3.5% *Pediococcus* and 8.5% Non-lactic acid bacteria. Isolates were identified by ribosomal DNA sequencing as *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus apis*, *Lactobacillus ultunensis* and *Pediococcus argentinicus*.

The microbial community from ewe's drinking yogurt were identified on the basis of Next-generation sequencing (NGS) at genus level as 94.08% *Lactobacillus*, 1.07% *Pediococcus*, 0.33% *Streptococcus*, 0.20% *Enterococcus*, 0.11% *Candidatus Blochmannia*, 0.11% *Alkalibacillus*, 0.06% *Cohnella* and 3.02% unclassified. At species level 24.82% *Lactobacillus equicursoris*, 51.81% *Lactobacillus delbrueckii*, 3.61% *Lactobacillus apis*, 2.79% *Lactobacillus ultunensis*, 0.86% *Lactobacillus taiwanensis*, 0.85% *Lactobacillus gigeriorum*, 0.42% *Pediococcus argentinicus* and 13.64% unclassified were identified. Findings of this study have provided fundamental knowledge on sanitary quality and microbial composition of drinking yogurt produced by Somar nomads. Both phenotypic and molecular identification methods showed *Pediococcus* and *Lactobacillus* genus as the dominant genera in these samples. Molecular identification results showed *Lactobacillus delbrueckii* as the dominant species. Four species, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus apis*, *Lactobacillus ultunensis* and *Pediococcus argentinicus* were identified by both cultivation-dependent and cultivation-independent (NGS) methods. Rather, culture-dependent and culture-independent methods were found to be complementary in describing the microbial community of the ewe's drinking yogurt produced by Somar nomads. The next-generation sequencing was found to be more accurate method in detecting the microbial diversity of drinking yogurt. The results showed poor hygienic quality of ewe's drinking yogurt from Somar nomads, but there were no pathogenic bacteria in this product.

Keywords: Next-Generation Sequencing, Drinking Yogurt, Ewe, nomds.



تاثیر نوع بسته‌بندی بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و حسی مغز گردو طی مدت نگهداری آن

سمیه رستگار¹ - اعظم شجاعی² - بهجت تاج‌الدین^{3*}

تاریخ دریافت: 1396/08/27

تاریخ پذیرش: 1397/04/03

چکیده

گردوی ایرانی به‌عنوان یک منبع طبیعی از ترکیبات زیست فعالی چون فنل و فلاونوئید، و دارا بودن مواد معدنی و اسیدهای چرب غیراشباع، نقش مهمی بر سلامت انسان دارد. اما به‌دلیل داشتن مقادیر زیادی روغن و امکان اکسایش آن، خیلی سریع در اثر عوامل مختلف فاسد شده و کیفیت خود را از دست می‌دهد. از این رو، طی پژوهشی، تاثیر دما (4 و 25 درجه سلسیوس) و نوع بسته‌بندی (تحت خلا و حاوی هوا) بر تغییرات کمی و کیفی آن در مدت زمان شش ماه نگهداری ارزیابی گردید. میزان فنل، فلاونوئید، کربوهیدرات، پروتئین، درصد رطوبت، رنگ، خصوصیات حسی (ارگانولپتیکی) و عدد پراکسید در فاصله زمانی یک ماه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که مقدار کربوهیدرات و پروتئین مغز گردو طی نگهداری به تدریج کاهش یافت. خصوصیات حسی نیز طی نگهداری به‌ویژه اواخر دوره نگهداری در تمام شرایط اعمال شده به جز تیمار دمای 4 درجه و بسته‌بندی خلا، کاهش نشان دادند. نمونه‌های شاهد (دمای 25 درجه سلسیوس و بسته‌بندی حاوی هوا) طی آزمایش در تمام فاکتورها نسبت به نمونه‌های تیمار شده کیفیت کمتری را به نمایش گذاشتند. نمونه‌های نگهداری شده در دمای پایین و بسته‌بندی تحت خلا دارای شدت روشنایی بهتری (مقادیر بالاتر کروما، هیو، شاخص روشنایی (L) و شاخص سفیدی (Wi)) بودند. تیمارهای مورد استفاده نقش موثری در جلوگیری از افزایش عدد پراکسید نشان دادند. عدد پراکسید در بسته‌های معمولی از 0/023 به 0/68 میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه رسید درحالی که در بسته‌های تحت خلا از 0/023 به 0/37 میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه تغییر یافت. افزایش عدد پراکسید از 0/023 به 0/68 و از 0/023 به 0/25 میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه به ترتیب در دمای معمولی و دمای یخچال مشاهده شد. پس از شش ماه نگهداری متوسط سطح پراکسید در تمام نمونه‌ها کمتر از یک میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم روغن بود. کاهش ترکیبات فنلی (30 درصد) و فلاونوئیدی (35 درصد) و افزایش اندیس پراکسید به‌طور هم‌زمان منجر به کاهش خصوصیات ظاهری و خواص ارگانولپتیکی در نمونه‌های شاهد شد.

واژه‌های کلیدی: اکسایش، بسته‌بندی، ترکیبات زیست فعال، عدد پراکسید، گردو

مقدمه

خواربار جهانی⁴ (Anon, 2011)، ایران پس از چین و آمریکا در رده سوم تولید گردو قرار دارد؛ اما تنها نیم درصد از سهم تجارت جهانی این محصول را در اختیار دارد. یکی از دلایل عمده این تضاد، عدم شناخت کافی از ترکیب شیمیایی مغز گردو و تأثیر این ترکیبات بر ماندگاری مغز گردو طی نگهداری است. این آگاهی نه تنها از نظر ارزیابی کیفیت تغذیه‌ای و تجاری آن اهمیت دارد، بلکه ضرورت مصرف گردو را نیز آشکار می‌کند.

گردو (*Juglans regia* L) از نظر گیاه‌شناسی به خانواده جاگلانداسه⁵ تعلق داشته و به دلیل دارا بودن اسیدهای چرب غیراشباع (اولئیک، لینولئیک، و لینولنیک)، پروتئین، کربوهیدرات، ویتامین‌ها و مواد معدنی برای سلامت انسان مهم است (Jensen et al., 2003). سطح بالای اسیدهای چرب غیراشباع در مغز گردو،

کشور ایران با این که یکی از عمده‌ترین کشورهای فعال در زمینه تولید و عرضه خشکبار در سطح بین‌المللی است ولی با ورود کشورهای دیگر به این بازار و عرضه محصولاتی با کیفیت بالاتر و بسته‌بندی بهتر سهم کشور ایران از بازار جهانی خشکبار به تدریج در حال کاهش است. نظر به اهمیت کیفیت محصولات صادراتی برای موفقیت در جریان رقابت با محصولات کشورهای دیگر، بررسی و توجه به دلایل افت کیفیت و در نتیجه کاهش سهم صادرات خشکبار ایران از بازار تجارت جهانی ضروری است. بر اساس آمار سازمان

1 و 2- به ترتیب استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

3- دانشیار، مهندسی بسته‌بندی، موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی (ابری) - سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (ارپو)، کرج، ایران

(* - نویسنده مسئول: Email: b.tajeddin@areeo.ac.ir)

DOI: 10.22067/food.v14i5.68814

4 Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)
5 Juglandaceae

گردو طی نگهداری و تأثیر این عوامل بر خصوصیات حسی و ظاهری مغز گردو برای ژنوتیپ‌های ایرانی، اطلاعات جامعی در دسترس نیست. از این رو، در پژوهش حاضر امکان نگهداری مغز گردو (ژنوتیپ معمولی ایران) در بسته‌بندی تحت خلا در دو دمای محیط و یخچال به منظور حفظ شاخص‌های مختلف کمی، کیفی و حسی آن طی مدت شش ماه نگهداری مطالعه شد.

مواد و روش‌ها

گردوی ژنوتیپ معمولی (یکی از انواع گردو با بازارپسندی بالا) از باغی تجاری در منطقه‌ای کوهستانی (رابر - کرمان) با دست برداشت شد. مواد شیمیایی کلروفرم، استیک اسید، بی‌کربنات سدیم، فولین سیو کالچو¹، اسیدسولفوریک، تریس²، کوماسی بریلیانت بلو جی³، یدورپتاسیم، اسیدکلریدریک، و کلرید آلومینیوم نیز از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

آماده‌سازی و بسته‌بندی نمونه‌ها قبل از نگهداری

بلافاصله پس از برداشت گردو، پوسته سبز آن جدا و به مدت چهار روز در سایه و با گردش هوای طبیعی خشک گردید. سپس گردوها به آزمایشگاه منتقل شده و با گردو شکن پوسته چوبی آن‌ها جدا گردید. پس از آن، حدود 25 گرم از مغز گردو در فیلم‌هایی از جنس پلی‌اتیلن با ضخامت 87 میکرومتر (0/087 میلی‌متر)، تحت دستگاه خلا (GSM-DZ410-610) با سطح خلا 5 درصد و هوای معمولی بسته‌بندی شد و در دو دمای 4 و 25 درجه سلسیوس به مدت شش ماه نگهداری گردید. طی مدت نگهداری، خصوصیات مختلف نمونه‌ها به شرح زیر، ماهانه ارزیابی گردید.

ارزیابی ویژگی‌های نمونه‌ها

درصد پروتئین

برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین، ابتدا عصاره‌گیری انجام شد. بدین منظور، نیم گرم نمونه در ازت مایع کاملاً خرد شد و با اضافه کردن بافر استخراج (61/0 گرم تریس با 0/05 گرم پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP) در 40 میلی‌لیتر آب مقطر به‌خوبی حل شد، پس از تنظیم در pH هشت با استفاده از اسیدکلریدریک، محلول به حجم نهایی 50 میلی‌لیتر رسانده شد) به مدت 15 دقیقه با دور 13 هزار، سانتریفیوژ گردید. سپس، 20 میکرولیتر عصاره استخراج شده داخل لوله آزمایش ریخته و 80 میکرولیتر بافر استخراج و پنج میلی‌لیتر

نگهداری آن را با مشکل مواجه کرده است (تاج‌الدین، 1383). لیپوکسی‌ژناز، یکی از آنزیم‌های اصلی است که باعث تجزیه چربی‌ها و آزاد شدن رادیکال‌های آزاد می‌شود (Piccirillo *et al.*, 2004; Savage and McNeil, 2001). بررسی شاخص پراکسید اغلب به عنوان شاخص کیفی گردو، و به‌عنوان مواد فرار و خواص حسی آن مهم است (Mitcham *et al.*, 2004). مواد غذایی که حاوی چربی بالایی هستند به نور حساس بوده و می‌توانند خیلی سریع اکسیژن جذب کنند. به همین دلیل لازم است این مواد طوری بسته‌بندی شوند که نگهداری آن‌ها مشکلی برای مصرف‌کننده ایجاد نکند. بدین منظور بایستی فشار سطحی اکسیژن داخل بسته را به حداقل رساند و یا نزدیک صفر نگه داشت. بنابراین، تخلیه اکسیژن از بسته‌های مواد غذایی یعنی استفاده از بسته‌بندی خلاء، ممکن است زمان ماندگاری یا عمر مفید گردو را افزایش دهد (تاج‌الدین، Johnson and Decker, 2015; Zhi and Han, 2006; 1383). تحقیقات نشان داده است که دمای نگهداری نیز نقش مهمی در حفظ کیفیت و ترکیبات مغز خشکبار دارد (Penter *et al.*, 2014).

طی مطالعه‌ای، اثر دما و اتمسفر بسته‌بندی بر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و رنگ گردو طی زمان نگهداری آن بررسی شد و نتایج نشان داد که دمای پایین و بسته‌بندی با گازهای نیتروژن یا دی‌اکسید کربن مانع از کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و قهوه‌ای شدن می‌شود (Christopoulos and Tsantili, 2011). در نگهداری پودر گردو در پنج دما و سه نوع بسته‌بندی متفاوت، گزارش شد که امکان نگهداری پودر گردو در ظروف پلاستیکی یا بسته‌های کاغذی به مدت 26 هفته در دمای 3/3 درجه سلسیوس بدون تغییرات عمده در میزان رطوبت یا عدد پراکسید آن وجود دارد (Vanhanen and Savage, 2006). در مطالعه‌ای دیگر، اثر بسته‌بندی و شرایط نگهداری بر کیفیت مغز گردو مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد که مغز گردو قابلیت پذیرش خود را در بسته‌بندی پلی‌اتیلن حاوی هوا، بسته‌بندی دولایه پلی‌اتیلن حاوی ازت و دو لایه پلی‌اتیلن/اکسید سیلیس حاوی ازت، به ترتیب به مدت 2، 4 تا 5 و 12 ماه در دمای 20 درجه سلسیوس حفظ می‌کند (Mexis *et al.*, 2009). به‌طور کلی، کاهش غلظت گاز اکسیژن با ایجاد خلاء یا افزودن گازهای بی‌اثری چون دی‌اکسید کربن یا نیتروژن به اتمسفر نگهداری، روش معمول برای جلوگیری از فرآیند اکسایش در مواد غذایی گوناگون است (Hotchkiss, 1988; Kacyn *et al.*, 1983). به‌عنوان مثال، افزایش دی‌اکسید کربن در بسته‌بندی باعث کاهش عدد پراکسید در مقایسه با شاهد بوده و بهترین شرایط برای نگهداری مغز تازه گردو، وجود 1/46 درصد اکسیژن، 10 درصد دی‌اکسید کربن داخل بسته در دمای 4 درجه سلسیوس گزارش شده است (Javanmard, 2017).

به‌ر حال، در حال حاضر در مورد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی)، فعالیت آنزیمی و اکسایش چربی مغز

1 Folin Ciocalteu

2 Tris(hydroxymethyl)aminomethane

3 Coomassie Brilliant Blue G-250

$$\text{Hue Angle} = \tan^{-1}(b/a) \quad (4)$$

عدد پراکسید

اندازه‌گیری عدد پراکسید، براساس استاندارد AOAC² انجام گرفت (Horwitz et al., 1975). برای این کار، مقدار پنج گرم نمونه وزن و در هاون چینی کاملاً ساییده شد. سپس، بلافاصله در ارلن مایر 250 میلی‌لیتری با 30 میلی‌لیتر حلال (مخلوط اسید استیک و کلروفرم به نسبت دو به یک) مخلوط گردید. بعد، حدود نیم میلی‌لیتر یدور پتاسیم به آن اضافه شد و مخلوط پس از یک دقیقه ساکن ماندن، گاه‌گاهی هم زده شد. سپس، 30 میلی‌لیتر آب مقطر و چند قطره چسب نشاسته به مخلوط اضافه گردید و با تیوسولفات 0/02 نرمال تیتیر شد. تیتراسیون تا رسیدن به رنگ شفاف و روشنی ادامه یافت. سپس عددپراکسید از طریق فرمول زیر بر حسب میلی‌اکی والان بر کیلوگرم محاسبه شد.

$$(5) \text{ وزن نمونه } / (1000 \times \text{نرمالیت} \times \text{حجم تیتراسیون مصرفی}) = \text{عدد پراکسید}$$

فنل کل

طبق روش Leong و Shui (2002)، یک گرم از گوشت میوه با 10 میلی‌لیتر اتانول 50 درصد در هاون چینی هموئیزه شد و پس از 30 دقیقه، با کاغذ صافی واتمن فیلتر گردید. عصاره الکلی مجدداً توسط 10 میلی‌لیتر اتانول 50 درصد رقیق شد. پس از آن 0/5 میلی‌لیتر از عصاره با 2/5 میلی‌لیتر فولین سیوکالچو رقیق شده (فولین 1:10) و دو میلی‌لیتر بی‌کربنات سدیم 7/5 درصد مخلوط گردید. نمونه‌ها در دمای 20 درجه سلسیوس به مدت دو ساعت قرار گرفتند. سپس، جذب آن‌ها در طول موج 750 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای تهیه منحنی استاندارد، 0/5 میلی‌لیتر از محلول‌های اسیدگالیک با غلظت‌های (صفر، 5، 10، 15، 25، 40، 50 و 60 میلی‌گرم بر لیتر) برداشته و در طول موج 750 نانومتر قرائت شد. اعداد به‌صورت (میلی‌گرم اسیدگالیک در 100 گرم بافت میوه) محاسبه گردید.

ترکیبات فلاونوئیدی

مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم تعیین شد. 0/5 میلی‌لیتر عصاره (به روش فنل کل که در بالا ذکر شد)، 1/5 میلی‌لیتر اتانول 96 درصد، 0/1 میلی‌لیتر محلول 1 درصد کلرید آلومینیوم، 0/1 میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم 1 مولار و 2/8 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شده و پس از 30 دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول موج 415 نانومتر خوانده شد به

معرف کوماسی بلو تازه به آن افزوده و دو دقیقه همزده شد. سپس جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (CECIL CE250، انگلستان) در طول موج 595 نانومتر قرائت گردید (Bradford, 1976).

کربوهیدرات

برای این کار، یک میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده (0/5 گرم از نمونه پودر شده با 13 میلی‌لیتر اتانول 80 درصد به مدت 10 دقیقه در دور پنج هزار سانتریفوژ شد. سپس به محلول روبی آن، درون ارلن 25 میلی‌لیتری، مجدداً 10-12 میلی‌لیتر اتانول 80 درصد اضافه شد و به مدت 10 دقیقه در دور پنج هزار سانتریفوژ گردید) همراه با 1 میلی‌لیتر محلول فنل 5 درصد (پنج گرم فنل در 100 میلی‌لیتر آب مقطر) و 5 میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ، به درون لوله آزمایش منتقل و محلول ایجاد شده به مدت 30 ثانیه همزده شد. سپس لوله‌ها به آب یخ منتقل شده و مقدار جذب نوری با طول موج 490 نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از محلول گلوکز در غلظت‌های مختلف (صفر، 20، 40، 60، 80 و 100 گرم گلوکز در 100 گرم وزن تر) برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید (DuBois, 1956).

درصد رطوبت

10 گرم از مغز گردو در آون با گردش هوای 50-60 درجه سلسیوس خشک شد. زمانی که وزن نمونه‌ها ثابت شد، میزان رطوبت با استفاده از فرمول 1، محاسبه و تعیین گردید (Christopoulos et al., 2010).

$$(1) \text{ [وزن اولیه} / (\text{وزن نمونه بعد از آون} - \text{وزن اولیه})] = \text{درصد رطوبت}$$

رنگ

رنگ نمونه‌ها با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج (CR 400، ژاپن) و بر اساس خصوصیات رنگی a^* ، L^* و b^* اندازه‌گیری شد. مقدار $L^*a^*b^*$ با تبدیل شدن به زاویه (Hue Angle) h و (Chroma) c با توجه به روش McGuire (1992) مشخص شد. علاوه بر این، ^{1}WI یا شاخص سفید بودن با استفاده از روش زیر محاسبه گردید. مقادیر L بیانگر روشنی یا تیرگی رنگ است (صفر = سیاه و 100 = سفید)، a^* بیانگر محوری است که از رنگ سبز (-a) به رنگ قرمز (+a) و b^* بیانگر محوری است که از رنگ آبی (-b) به زرد (+b) طی می‌کند.

$$WI = 100 - [(100L)^2 + a^2 + b^2] \quad (2)$$

$$\text{Chroma} = (a^2 + b^2)^{1/2} \quad (3)$$

منظور رسم منحنی استاندارد، از کوئرتستین استفاده شد و نتایج برحسب میلی گرم کوئرتستین در هر گرم نمونه بیان گردید (Chen et al., 2004).

خصوصیات حسی (ارگانولپتیکی)

ارزیابی حسی با استفاده از روش مقیاس هدونیک 5 نقطه‌ای (1=بد، 2=ضعیف، 3=متوسط، 4=خوب، 5=بسیار خوب) انجام شد. بدین ترتیب که هشت داور انتخاب شدند. به هر داور، 3 عدد مغز گردو از هر تیمار در ظروف شفاف بی‌رنگی داده شد که با کد سه رقمی تفکیک شده بودند. آب تازه نیز به منظور نوشیدن بین هر مرحله تشخیص در دسترس داوران قرار گرفت. داوران، ویژگی‌های عطر، طعم، بافت، تیزی و تلخی، ترشیدگی و پذیرش کلی مغز گردو ارزیابی کردند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌ها بعد از جمع‌آوری در نرم‌افزار اکسل ثبت و مرتب گردید

نتایج و بحث

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول 1)، تاثیر ساده تیمارها بر بیشتر صفات مورد بررسی در سطح اطمینان 99% (سطح احتمال 1%) معنی‌دار است. اما اثرات متقابل نوع بسته‌بندی، دما و زمان بر صفات مورد بررسی معنی‌دار نیست. اثرات متقابل دما و زمان برای عددپراکسید و میزان فنل در سطح احتمال 1% و اثرات متقابل زمان و بسته‌بندی برای میزان فنل در سطح احتمال 5% و عددپراکسید در سطح احتمال 1% معنی‌دار اما در سایر صفات معنی‌دار نبود. اثرات متقابل دما و نوع بسته‌بندی فقط در مورد عدد پراکسید در سطح احتمال 5% معنی‌دار شد.

جدول 1- میانگین مربعات تاثیر بسته‌بندی و شرایط نگهداری بر ویژگی‌های کمی و کیفی مغز گردو

منابع تغییرات	فنل (میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر)	ترکیبات فلاونوئیدی (میلی گرم کوئرتستین برگرم وزن تر)	L	Hue	Wi	عدد پراکسید (میلی اکی والان بر کیلوگرم)	کروما	رطوبت (درصد)	پروتئین (گرم بر 100 گرم وزن تر)	کربوهیدرات (گرم گلوکز بر 100 گرم وزن تر)
پوشش (P)	34/6**	0/3 ^{ns}	3/738 ^{ns}	3/226 ^{ns}	3/51 ^{ns}	0/7**	6/05 ^{ns}	042/0 ^{ns}	14/98*	8/437*
دما (TE)	52/6**	1/5*	21/28*	14/1**	10/2*	58**	10/63*	18 ^{ns}	26/91**	31/93**
زمان (TI)	31/5**	3/7**	5/4 ^{ns}	3/576 ^{ns}	4/96 ^{ns}	26**	5/74*	034 ^{ns}	13/62**	15/32**
P*TE	0/02 ^{ns}	0/11 ^{ns}	1/07 ^{ns}	1/773 ^{ns}	2/20 ^{ns}	019*	0/10 ^{ns}	02 ^{ns}	0/03 ^{ns}	2/33 ^{ns}
P*TI	3/7*	0/14 ^{ns}	5/37 ^{ns}	5/597 ^{ns}	74 ^{ns}	013*	0/38 ^{ns}	017 ^{ns}	1/933 ^{ns}	9/900 ^{ns}
TE*TI	5/8**	0/5 ^{ns}	1/828 ^{ns}	1/68 ^{ns}	2/0 ^{ns}	058**	0/48 ^{ns}	016 ^{ns}	2/411 ^{ns}	4/13 ^{ns}
P*TE *TI	0/3 ^{ns}	0/09 ^{ns}	1/176 ^{ns}	2/272 ^{ns}	45 ^{ns}	011 ^{ns}	1/06 ^{ns}	0/005 ^{ns}	0/629 ^{ns}	0/40 ^{ns}
خطای آزمایش	1/22	0/1	9/741	1/82	3/14	0049	2/28	0/53	3/149	2/277
ضریب تغییرات	6/68	26/9	5/892	1/755	5/05	26/21	5/11	27/1	9/66	7/68

** اختلاف بین تیمارها در هر ستون در سطح احتمال 1 درصد (سطح اطمینان 99 درصد) معنی‌دار است. *: اختلاف بین تیمارها در هر ستون در سطح احتمال 5 درصد (سطح اطمینان 95 درصد) معنی‌دار است. ns: اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد.

با توجه به جدول 1، نتایج مربوط به هریک از ویژگی‌های مورد ارزیابی، به تفکیک در زیر بحث می‌شود.

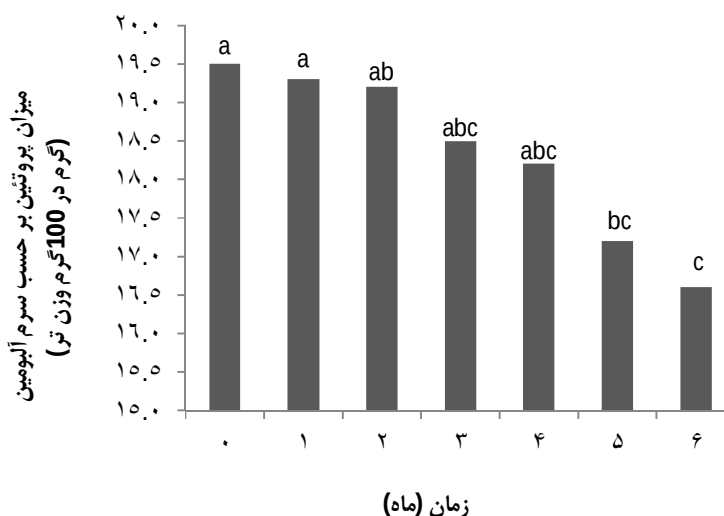
پروتئین

روز صفر نگهداری، غلظت پروتئین مغز گردو 19/5 گرم در 100 گرم وزن تر بر حسب سرم آلبومین (BSAL) بود. همان‌طور که در شکل 1 مشخص است، سطح پروتئین کل به تدریج با افزایش زمان

نگهداری، روند کاهشی نشان داد. به‌طوری‌که در تمامی تیمارها، محتوای پروتئین در فاصله اولیه نمونه‌برداری بیشترین مقدار و در آخرین زمان نمونه‌برداری کاهش نشان دادند. اما این کاهش در شرایط نگهداری مختلف متفاوت بود. طبق داده‌های جدول 2، نمونه‌های تحت تیمار 4 درجه سلسیوس و بسته‌بندی خلاء بالاترین مقدار پروتئین را طی دوره آزمایش حفظ کردند. میزان پروتئین در ژئوتیپ گردوی مورد نظر بیشتر از نتایج گزارش شده با میزان 13 و 14/63

نگهداری دارند، بررسی میزان پروتئین و روند تغییرات این ویژگی در ارقام مختلف مهم است. نتایج حاصل از این پژوهش نیز نشان داد که میزان پروتئین طی نگهداری کاهش می‌یابد، اما این کاهش بسته به شرایط و زمان نگهداری متفاوت است. از این نظر که در هر زمان نمونه برداری کاهش معنی داری نسبت زمان قبل مشاهده شد اما این کاهش در دمای 4 درجه سلسیوس و بسته‌بندی خلا محدود و در پایان دوره شش ماه سطح بالاتری از پروتئین را نسبت به شاهد ارائه کردند.

درصد توسط Necla (2003)، و میزان 17/66 درصد گزارش شده توسط Mao و همکاران (2014) است که این تفاوت می‌تواند به نوع رقم و شرایط اقلیمی مرتبط باشد. پروتئین‌های گیاهی نقش قابل توجهی در تغذیه انسان دارند و دانه‌های روغنی از منابع با ارزش چربی‌ها و پروتئین‌ها هستند. گردو منبع خوبی از پروتئین با کیفیت بالا و حاوی 18 تا 24% پروتئین بر اساس وزن خشک است (Sze-Tao *et al.*, 2000). به هر حال، در مورد روند و میزان تغییر پروتئین مغز گردو طی نگهداری اطلاعات جامعی در دسترس نیست اما به دلیل اهمیتی که این ترکیبات در ارزش غذایی مغز گردو طی

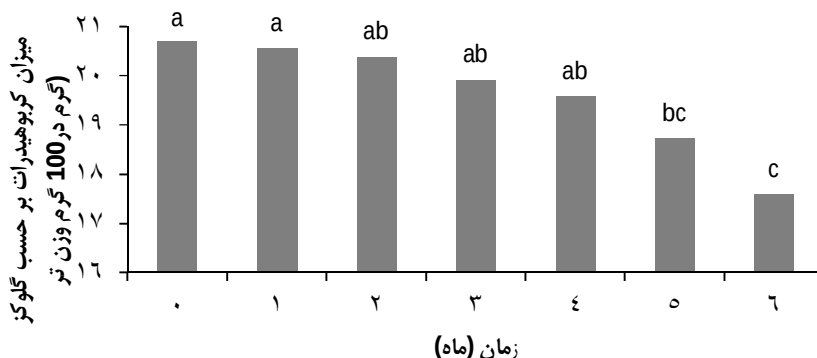


شکل 1- اثر ساده زمان بر مقدار پروتئین مغز گردو طی شش ماه نگهداری. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 1 درصد است.

حاصل از این پژوهش در دامنه داده‌های دیگر ژنوتیپ‌های گردوی ایرانی می‌باشد. حمیدی و همکاران (1394) در بررسی چند ژنوتیپ گردوی محلی ایران با رنگ‌های مختلف مغز، میزان کربوهیدرات را بین 23 تا 11/23 درصد بیان کردند. گردو خشک معمولاً برای زمان طولانی نگهداری می‌شود و گزارش شده است که باید در دمای کمتر از 10 درجه سلسیوس قرار گیرد (Kader and Tampson, 2002). با این حال طی نگهداری و با انتقال به محل بازار اغلب در معرض دمای محیط قرار می‌گیرند. دما و در دسترس بودن اکسیژن، از مهم‌ترین عوامل بیرونی هستند که کیفیت پس از برداشت آجیل‌ها را طی نگهداری تحت تأثیر قرار می‌دهند. همچنین مطالعات انجام شده در بادام‌زمینی نشان می‌دهد نمونه‌های نگهداری شده در دمای 20 درجه سلسیوس نسبت به نمونه‌های نگهداری شده در دمای 35 درجه سلسیوس کیفیت خود را بهتر حفظ کردند (Talcott *et al.*, 2005).

کربوهیدرات

مقدار کربوهیدرات در روز صفر نگهداری، 20/7 گرم بر 100 گرم وزن تر بر حسب گلوکز بود. طی نگهداری غلظت کربوهیدرات با الگوی تقریباً مشابه پروتئین به تدریج کاهش یافت طوری که در اواخر دوره نگهداری کاهش محتوای کربوهیدرات قابل توجه است (شکل 2). اثر ساده تیمارها نشان می‌دهد نمونه‌هایی که طی مدت زمان نگهداری تحت شرایط دمای محیط و بسته‌بندی با اتمسفر هوا قرار گرفتند تقریباً کربوهیدرات اولیه خود را از دست داده و مقدار کربوهیدرات در پایان آزمایش برای هر یک از این شرایط به ترتیب برابر با 19 و 19/3 گرم در 100 گرم وزن تر بر حسب گلوکز بود. در صورتی که نگهداری نمونه‌ها در بسته‌های حاوی اکسیژن کم و در دمای پایین، کاهش کربوهیدرات را محدود کرده است که به ترتیب برابر با 20 و 20/3 گرم در 100 گرم وزن تر است (جدول 2). داده‌های



شکل 2- اثر ساده زمان بر مقدار کربوهیدرات مغز گردو طی شش ماه نگهداری
حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 1 درصد است.

طی 8 و 12 ماه نگهداری در یخچال، کاهش معنی‌داری در میزان رطوبت نمونه‌های بسته‌بندی شده تحت هوا و نمونه‌های تحت اتمسفر تغییر یافته (99 درصد ازت) مشاهده نشد (Ghirardello et al., 2013). در بررسی تغییرات درصد رطوبت مغز گردو از ابتدا تا پایان نگهداری به مدت 12 ماه، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این امر احتمالاً به دلیل تغییرات کم رطوبت محیط نگهداری (35-45 درصد) و درصد بالای چربی در مغز گردو بوده است (Hosseini et al., 2012).

رطوبت

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول 1)، تیمارهای مختلف دما، نوع بسته‌بندی و مدت زمان نگهداری تاثیر معنی‌داری بر محتوای رطوبت مغز گردو نداشتند. مطابق جدول 2، در بررسی تغییرات کیفیت مغز گردو تفاوت معنی‌داری بین درصد رطوبت نمونه‌های بسته‌بندی تحت خلا و دمای پایین و نمونه‌های بسته‌بندی هوا و دمای محیط مشاهده نشد. یافته‌های حاصل از این پژوهش با مطالعات دیگر محققان مطابقت دارد. در تحقیقی روی مغز فندق نشان داده شد که

جدول 2- اثر ساده تیمارهای بسته‌بندی و دمای نگهداری بر برخی از صفات مغز گردو

تیمار	کربوهیدرات	پروتئین	رطوبت	ترکیبات فلاونوئیدی	رنگ
	(گرم گلوکز بر 100 گرم وزن تر)	(گرم سرم آلبومین بر 100 گرم وزن تر)	(درصد)	(میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تر)	میزان هیو (L, Wi) (روشنایی Hue) سفیدی (Wi) کروما
بسته‌بندی خلاء	^a 19/95	^a 18/73	^a 2/67	^a 1/24	^a 29/79
بسته‌بندی هوا	^b 19/31	^a 17/93	^a 2/71	^a 1/12	^b 29/26
دمای 4°C	^a 20/25	^a 18/95	^a 2/65	^a 1/32	^a 29/88
دمای 25°C	^b 19/01	^b 17/71	^a 2/74	^b 1/04	^b 29/17

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین تیمارها است

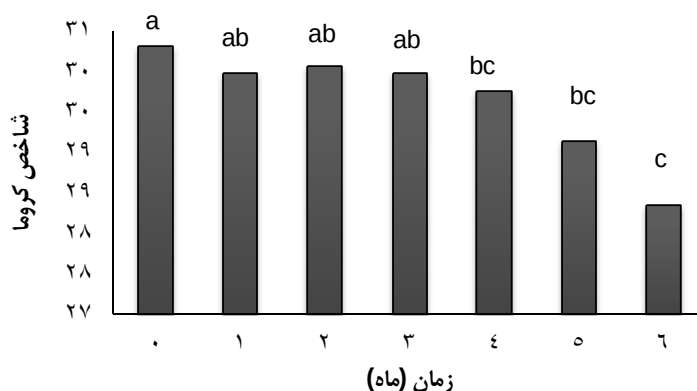
مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری در فاصله اولیه انبارمانی تا ماه پنجم و ششم نگهداری مشاهده نشد (شکل 3). شدت کروما در دمای 4 درجه سلسیوس، مقدار 29/9 است که به‌طور معنی‌داری بالاتر از مقدار آن در دمای 25 درجه سلسیوس (29/2) می‌باشد. شاخص‌های (L, Wi) نیز در دمای 4 درجه تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های نگهداری شده در دمای 25 درجه نشان دادند. گزارش شده است که نگهداری گردو در

رنگ

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر دما و زمان بر شاخص کروما معنی‌دار شد درحالی که از بین تیمارهای مختلف فقط دما بر فاکتورهای دیگر رنگ (L, Wi) معنی‌دار شد (جدول 1). شاخص کروما همزمان با گذشت زمان کاهش یافت. بیشترین کروما در زمان برداشت (30/31) و کمترین آن بعد از شش ماه نگهداری (28/33)

نگهداری بالاتر از 40 بود و این امر نشان‌دهنده کیفیت خوب رنگ گردو با توجه به استاندارد صنعت گردو است (Wang et al., 2007). عمدتاً قهوه‌ای شدن مغز گردو محصول فعالیت آنزیمی یا اکسیداسیون شیمیایی ترکیبات فنلی است (Manzocco et al., 2000). در واقع در کار حاضر، پایین‌ترین مقدار L, Hue و Wi در نمونه‌های تحت شرایط دمای محیط و بسته‌بندی حاوی هوا که بالاترین ضایعات را در فیل و فلاونوئید به‌همراه داشت، دیده شد.

شرایط بسته‌بندی 100 درصد ازت و در دمای پایین نقش معنی‌داری در حفظ پارامترهای رنگ (L, hue) داشته است اما پارامتر کروما فقط تحت تاثیر دما قرار گرفته است و شرایط بسته‌بندی تاثیر معنی‌داری بر میزان آن نداشته است (Christopoulos et al., 2010). به‌طور کلی رنگ مغز گردو مطابق استاندارد (Anon, 1997)، به‌صورت بسیار روشن، روشن، کهربایی روشن، و کهربایی دسته‌بندی شده است (افکاری سیاح و همکاران، 1395). در این آزمایش مقدار هیو نزدیک به 80 بود که نشان‌دهنده رنگ زرد می باشد. مقادیر L قبل و بعد از



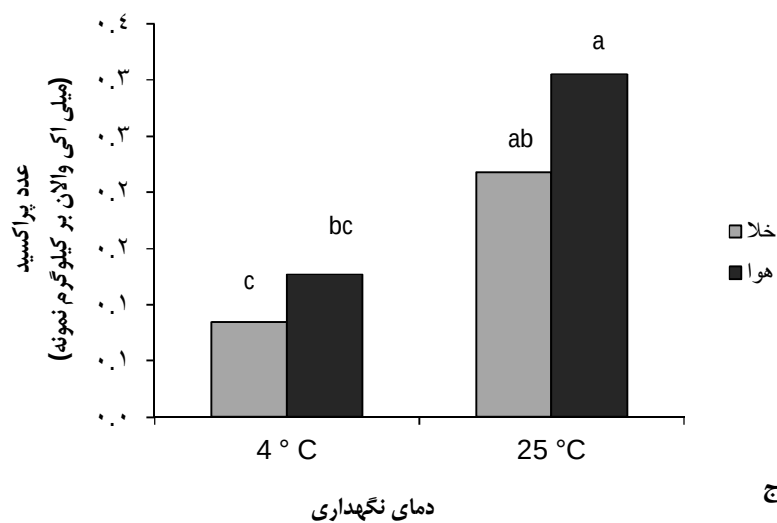
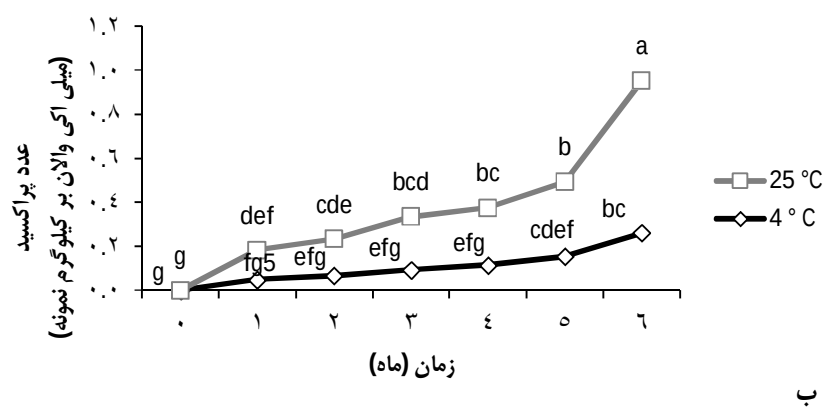
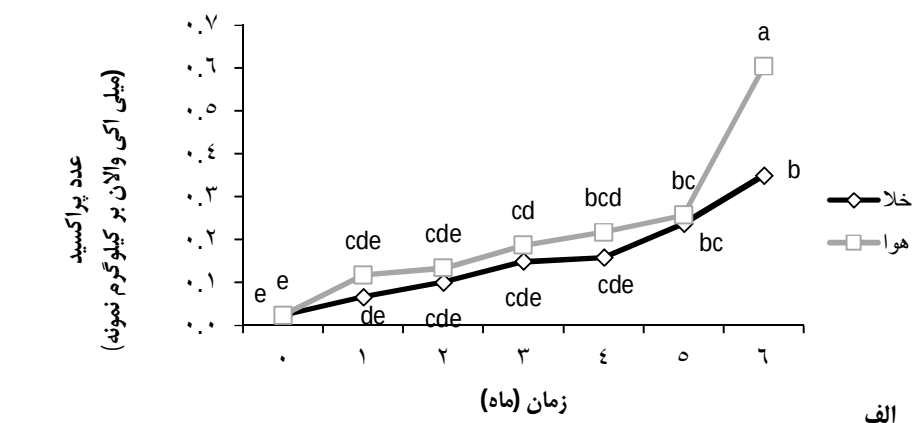
شکل 3- روند تغییر کروما طی نگهداری مغز گردو.

حروف مشابه ستون‌ها نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد است.

ارزش غذایی خشکبار می‌شود. متداول‌ترین نشانگر تندی اکسیداسیونی در خشکبار، عدد پراکسید است. اکسیداسیون یکی از عوامل فساد مواد غذایی است که در نتیجه آن، پراکسید تولید می‌شود. پراکسید تولیدی، با شاخص عدد پراکسید قابل سنجش است و بیشتر در اسیدهای چرب غیراشباع رخ می‌دهد (Vasudevan et al, 2014). به دلیل اهمیتی که اکسیداسیون چربی‌ها در ایجاد بد طعمی مواد غذایی دارد، سنجش این فاکتور دارای اهمیت می‌باشد. در تحقیق حاضر، عدد پراکسید در مغز گردو با گذشت زمان افزایش یافت اما در نمونه‌های بسته‌بندی تحت خلا و در دمای یخچال تغییر کمتری را نشان داد. این مسئله می‌تواند بیانگر این باشد که با کاهش دما و کاهش اکسیژن، تغییرات اکسایشی مغز گردو کاهش می‌یابد. اندیس پراکسید بالا شاخص فساد چربی است. پراکسیدها قادرند به‌طور برگشت‌ناپذیر موجب تخریب پروتئین‌های سلولی شوند. ایجاد پراکسید در مراحل اولیه بسیار کند صورت می‌گیرد و این مرحله بر حسب نوع روغن، شرایط نگهداری آن، درجه حرارت و اتمسفر محیط ممکن است از چند هفته تا چند ماه متغیر باشد، پس از آن ایجاد پراکسید تسریع شده و خود به‌عنوان کاتالیزور در تسریع اکسیداسیون روغن شرکت می‌کند.

عدد پراکسید

بر اساس جدول تجزیه واریانس اثرات متقابل دوگانه تیمارهای مورد استفاده بر عدد پراکسید معنی‌دار شد (جدول 1). همان‌طور که در شکل 4 الف مشاهده می‌شود طی مدت زمان نگهداری مغز گردو عدد پراکسید تا ماه پنجم نگهداری به تدریج افزایش می‌یابد از آن به بعد شدت افزایش تسریع می‌شود. در تمام مدت زمان نگهداری عدد پراکسید در نمونه‌های بسته‌بندی شده تحت خلا در سطح پایین‌تری نسبت به بسته‌بندی تحت هوا داشتند. به‌طوری‌که در پایان آزمایش اندیس پراکسید در بسته‌های تحت خلا (0/3 میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم) نصف عدد پراکسید در بسته‌های تحت هوا (0/6 میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم) بود. عدد پراکسید در دمای 25 درجه سلسیوس در مدت انبارمانی به‌طور معنی‌داری بالاتر از عدد پراکسید در دمای 4 درجه سلسیوس بود (شکل 4 ب). بر اساس (شکل 1 ج) عدد پراکسید در بسته‌های تحت خلا در دمای 4 درجه سلسیوس تفاوت معنی‌داری نسبت به بسته‌های تحت خلا در دمای 25 درجه سلسیوس نشان دادند. ترکیبات عمده گردو را تری گلیسریدها تشکیل می‌دهند که در آن اسیدهای چرب تک غیراشباع (اسیداولئیک) و اسیدهای چرب چند غیراشباعی (اسید آلفالینولنیک و اسید لینولئیک) در مقادیر بالا حضور دارند. اکسیداسیون چربی‌ها باعث مزه و طعم نامطلوب و کاهش



شکل 4- الف: مقایسه محیط بسته‌بندی بر سطح پراکسید طی مدت نگهداری، ب: تأثیر دما بر سطح پراکسید طی مدت نگهداری، ج: اثر متقابل دما و محیط بسته‌بندی در کاهش اندیس پراکسید.
حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح یک درصد است.

طی نگهداری، آنتی‌اکسیدان‌ها به‌ویژه ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی مستعد اکسیداسیون و در نتیجه کاهش ارزش تغذیه‌ای هستند که داده‌های این پژوهش نیز مبین این اطلاعات است. در گردو ترکیبات فنلی، ترکیبات منحصر به فردی هستند که در هر رقم با مقادیر مختلف بیان شده است (Colaric *et al.*, 2005) همچنین میزان ترکیبات فنلی در پاسخ به شرایط نگهداری ممکن است متفاوت باشد به‌عنوان مثال، Christopoulos و همکاران (2010) در مورد گردو، و Talcott و همکاران (2005) در مورد بادام‌زمینی به این نتیجه رسیدند که شرایط نگهداری، میزان ترکیبات فنلی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. Bakkalbasi و همکاران (2013) در بررسی چند رقم گردو نیز نشان دادند که میزان فنل کل در مدت زمان یک سال انبارمانی مغز گردو بطور معنی‌داری کاهش یافت. در حالی که ممکن است برخی از فنولیک اسیدها کاهش اندکی داشته باشند در تحقیق حاضر، مهار کاهش ترکیبات فنلی تا 5 ماه در شرایط خلا و دمای 4 درجه سلسیوس قابل توجه بود. ممانعت از کاهش فنل را می‌توان به محدودیت واکنش‌های اکسیداسیون توسط درجه حرارت کم و یا در دسترس بودن اکسیژن کم نسبت داد، زیرا ترکیبات فنلی مستعد ابتلا به اکسیداسیون مواد شیمیایی و یا آنزیمی هستند (et al., 2000). در نتیجه، از دست رفتن ترکیبات فنلی بالاتر در درجه حرارت بالا نه تنها به اثر مستقیم دما بر اکسیداسیون فنلی، بلکه می‌تواند به اثر غیرمستقیم آن از طریق افزایش غلظت اکسیژن در کیسه‌های ذخیره شده در دمای بالاتر نیز نسبت داده شود. داده‌های این پژوهش نشان داد دمای پایین و کاهش دسترسی به اکسیژن، نقش زیادی در حفظ کیفیت و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی) نمونه‌های نگهداری شده طی شش ماه دارد.

خصوصیات ارگانولپتیکی

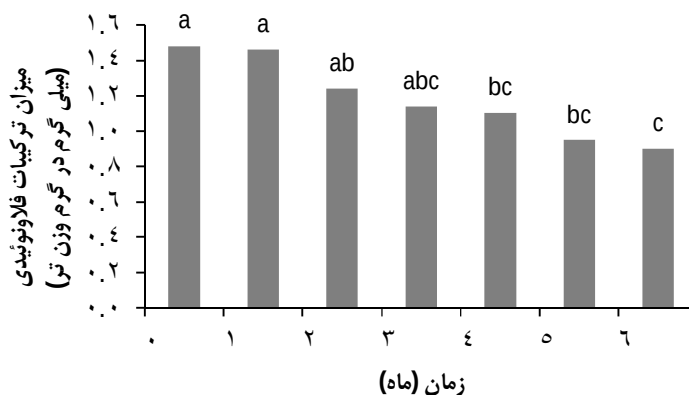
علاوه بر پارامترهای رنگی، سایر ویژگی‌های حسی مانند عطر و طعم، بو، بافت و ترشیدگی آن در میزان پذیرش محصول توسط مصرف‌کننده مؤثر است. بنابراین، ارزیابی حسی نمونه‌ها برای رسیدن به هدف فوق، ضرورت دارد. نتایج پژوهش نشان داد زمان و شرایط نگهداری تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های ارگانولپتیکی مغز میوه گردو دارد (جدول 3). شرایط دمایی و نوع بسته‌بندی مختلف، متفاوت است. همان‌طور که مشاهده می‌شود خصوصیات ارگانولپتیکی مغز گردو در اواخر دوره نگهداری کاهش میابد. اما رابطه دو طرفه دما و بسته‌بندی بیانگر نقش مؤثر دمای پایین و کاهش اکسیژن بر حفظ ویژگی‌های حسی مغز میوه گردو است. طبق نتایج به‌دست آمده، تمام خصوصیات ارگانولپتیکی در نمونه‌های نگهداری شده در شرایط دمای 4 درجه سلسیوس و بسته‌بندی خلا تا پایان دوره این تحقیق کیفیت خود را حفظ کرده است در صورتی که نمونه‌های شاهد

Raisi و همکاران (2015) در بررسی تاثیر نوع اتمسفر بسته‌بندی (هوای معمولی، خلا و CO₂) و دما (یخچال و دمای محیط) بر شدت اکسیداسیون مغز بادام رقم مامایی در مدت ده ماه نگهداری، گزارش کردند که عدد پراکسید در تمام شرایط با گذشت زمان افزایش یافت. اما نمونه‌های نگهداری شده در بسته‌بندی تحت خلا در دمای 4 درجه سلسیوس پایداری بیشتری در عدد پراکسید نسبت به دیگر تیمارها نشان دادند و تفاوت معنی‌داری بین عدد پراکسید در پایان و ابتدای انبارمانی در این تیمارها مشاهده نشد. Jensen و همکاران (2003) گزارش کردند که افزایش درجه حرارت و افزایش اکسیژن، حساسیت محصولات را از نظر اکسیداسیون چربی (ترشیدگی و تولید مواد فرار) و ویژگی‌های حسی افزایش می‌دهد. Hosseini و همکاران (2012) تیمارهای سطح تماس با اتمسفر و دمای نگهداری را بر پایداری اکسایشی گردو طی 8، 10 و 12 ماه بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند که شرایط نگهداری و مدت زمان نگهداری بر پایداری اکسایشی گردوها به‌طور معنی‌داری مؤثر است.

ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی

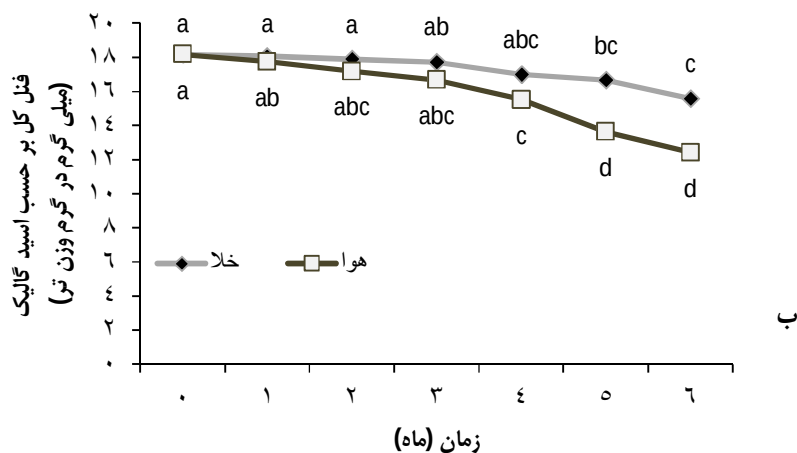
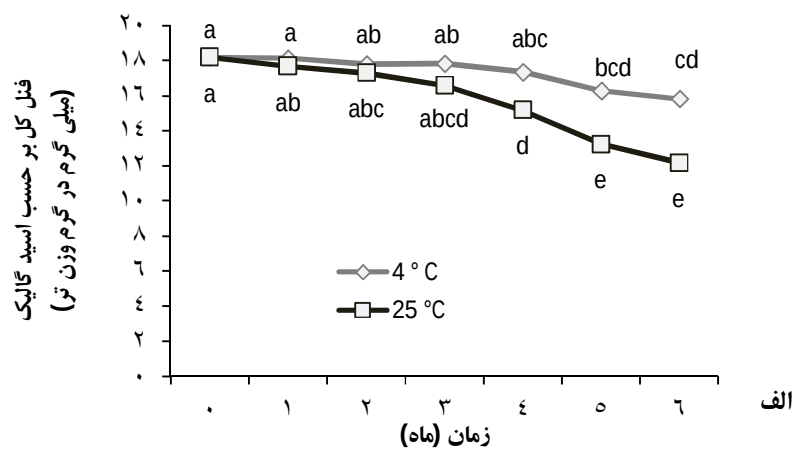
طبق نتایج حاصل، قبل از نگهداری غلظت ترکیبات فلاونوئیدی 1/48 میلی‌گرم کوئرستین بود. میزان فلاونوئید کل به تدریج با افزایش زمان نگهداری در همه تیمارها روند کاهشی نشان داد (شکل 5). به‌طوری‌که در پایان شش ماه تقریباً 39 درصد اولیه ترکیبات فلاونوئیدی کاهش یافت. محتوای ترکیبات فلاونوئیدی تحت شرایط نگهداری در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری نشان داد. اثر ساده تیمارها در جدول 2 نشان می‌دهد که در شرایط خلا و دمای 4 درجه سلسیوس ترکیبات فلاونوئیدی کاهش چشمگیری نشان نداد. در واقع اثرات مثبت دمای پایین و بسته‌بندی تحت خلا از افزایش خسارت ممانعت کرد و باعث حفظ کیفیت نمونه‌ها شد. واکنش فولین سیوکالچو به‌طور گسترده‌ای برای تخمین محتوای فنل کل در غذاهای گیاهی، از جمله آجیل‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در آزمایش حاضر قبل از بسته‌بندی، غلظت فنل حدود 18/18 میلی‌گرم گالیک اسید بود. که طی آزمایش با الگوی تقریباً مشابه ترکیبات فلاونوئیدی، به تدریج با گذشت زمان کاهش یافته است (شکل 6). در هر زمان نمونه‌برداری، بالاترین کاهش ترکیبات فنلی در درجه حرارت بالاتر مشاهده شد. در واقع دما پایین و کاهش اکسیژن مانع کاهش محتوای فنلی شد (شکل 6 الف-ب). بنابراین میزان ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی طی دوره شش ماهه به تدریج کاهش یافت اما در شرایط مختلف اعمال شده این افت کیفیت متفاوت بود. ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی یک خانواده بزرگ از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که نقش مؤثری در ارزش غذایی خشکبارها دارند. با این وجود در مورد نوع و میزان ترکیبات فلاونوئیدی خشکبارها اطلاعات کاملی در دسترس نیست. به‌طور کلی

(دمای محیط و بست حاوی هوا) به ویژه در اواخر آزمون کاهش معنی داری را نشان می دهند.



شکل 5- تغییرات میزان ترکیبات فلاونوئیدی مغز گردو طی مدت نگهداری

حروف مشابه ستون ها نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد طی مدت نگهداری است.



شکل 6- الف: تأثیر دما بر محتوای ترکیبات فنلی طی مدت نگهداری. ب: تأثیر محیط بسته بندی بر محتوای ترکیبات فنلی طی مدت نگهداری.

حروف مشابه نمودارها نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها طی زمان، در سطح احتمال یک درصد است.

(2003) گزارش کردند که افزایش درجه حرارت و افزایش اکسیژن، حساسیت محصولات را از نظر اکسیداسیون چربی (ترشیدگی و تولید مواد فرار) و ویژگی‌های حسی افزایش می‌دهد. زیرا ترکیبات حاصل از اکسیداسیون بر طعم روغن‌ها اثر می‌گذارد و چنانچه اکسیداسیون در سطح پیشرفته‌ای صورت گرفته باشد آن‌ها را غیرقابل مصرف می‌کند. (فاطمی، 1395).

طبق نتایج تغییر ویژگی‌های حسی (طعم، بافت، عطر، تیزی و تلخی، ترشیدگی و پذیرش کلی) مغز گردو طی شش ماه نگهداری در نتایج به‌دست آمده با نتایج سایر محققین مطابقت دارد. Young و Cunningham (1991)، با استفاده از ارزیابی حسی متوجه شدند که بادام، Macadamia و پسته بعد از 6-9 ماه نگهداری در 38 درجه سلسیوس و فندق، بادام زمینی و گردو تنها بعد از 2-5 ماه نگهداری در 38 درجه سلسیوس قابل پذیرش هستند. Jensen و همکاران

جدول 3- تأثیر دما، زمان و بسته‌بندی بر ویژگی‌های حسی (عطر، طعم، ترشیدگی، تیزی و تلخی، بافت و پذیرش کلی) مغز گردو طی مدت نگهداری

ویژگی	دما (°C)	بسته‌بندی	زمان (ماه)	0	1	2	3	4	5	6
عطر	4	خلأ	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5
		هوا	a5	a5	a5	a5	a5	a4/8	a4/8	b4/1
	25	خلأ	a5	a5	a5	a5	a5	a4/8	a4/8	a4/8
		هوا	a5	a5	a5	a4/6	bc4	bc4	bc4	c3/6
طعم	4	خلأ	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5
		هوا	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5	bc4/5
	25	خلأ	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5	bc4/3
		هوا	a5	a5	a5	a5	ab4/6	b4/1	d3/6	e3/1
ترشیدگی	4	خلأ	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5
		هوا	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5	b4/5
	25	خلأ	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5	b4/5
		هوا	a5	a5	a5	a5	a5	c4	c4	c3/8
تیزی و تلخی	4	خلأ	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5	a5
		هوا	a5	a5	a5	a5	a5	ab4/5	ab4/5	bc4/1
	25	خلأ	a5	a5	a5	a5	a5	ab4/5	ab4/5	bc4/1
		هوا	a5	a5	a5	a5	a5	cd4	d3/6	e3

حروف مشابه در ردیف‌های هر فاکتور نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (بسته‌بندی، دما و زمان نگهداری) در سطح یک درصد است.

نتیجه‌گیری

کاهش دما و اکسیژن محیط نگهداری در جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها، کاهش ترکیبات فنلی و تغییر عطر و طعم گردو (ژنوتیپ محلی) نقش موثری داشته است. به‌طوری که در نمونه‌های شاهد کاهش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و افزایش اندیس پراکسید به‌طور همزمان منجر به کاهش خصوصیات ظاهری و خواص ارگانولپتیکی شد. به‌نظر می‌رسد افزایش اکسیداسیون چربی، و فنلی در درجه حرارت بالا و غلظت اکسیژن بالا مسئول کاهش کیفیت

منابع

افکاری سیاح، ا.ح.، راسخ، م.، و طهماسبی، م. 1395. درجه‌بندی مغز گردو بر اساس اندازه و رنگ با استفاده از پردازش تصویر. فصلنامه فناوری-های نوین غذایی، سال 3، شماره 12، 35-46.

- تاج‌الدین، ب. 1383. بررسی اثر پوشش‌های پلیمری در بسته‌بندی مغز گردو. فصلنامه علمی - پژوهشی پژوهش و سازندگی، جلد 17، شماره 1، 3-8.
- حمیدی، ش.، یزدانی، ن.، رضایی، ک.، فرجی، ر. و وحدتی، ک. 1394. ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و پایداری اکسایشی مغز گردو (*Juglan regia* L.) با رنگ‌های زرد، کهربایی و قهوه‌ای. مجله مهندسی بیوسیستم ایران، دوره 46، شماره 3، 275-285.
- فاطمی، ح. 1395. شیمی مواد غذایی. شرکت سهامی انتشار، 480 صفحه.
- Anon. 1997. United States Standards for Grades of Shelled Walnuts (*Juglans regia*). United States Department of Agriculture. Effective September 1, 1968 (Reprinted- January 1997).
- Anon. 2011. FAOSTAT, Food and Agriculture Organisation (FAO), Rome
- Bakkalbaşı, E., Yilmaz, Ö.M., Yemiş, O., and Artik, N. 2013. Changes in the phenolic content and free radical-scavenging activity of vacuum packed walnut kernels during storage. *Food Science and Technology Research*, 19(1), 105-112.
- Bradford, M.M.A. 1976. Rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Chen, Q., Li, L., and Wu, Y. 2004. Progress of research on the chemical components and pharmaceutical action of walnut kernel. *Journal of Anhui University Natural Sciences*, 29(1), 86-89.
- Colaric, M., Veberic, R., Solar, A., Hudina, M., and Stampar, F. 2005. Phenolic acids, syringaldehyde, and juglone in fruits of different cultivars of *Juglans regia* L. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 6390-6396.
- Christopoulos, M.V., and Tsantili, M.V. 2011. Effects of temperature and packaging atmosphere on total antioxidants and colour of walnut (*Juglans regia* L.) kernels during storage. *Scientia Horticulturae*, 49-57.
- Christopoulos, M.V., Tsantili, E., Papageorgiou, V., Komaitis, M., and Rouskas, D. 2010. Effects of package atmosphere and temperature on phenolics, total antioxidant capacity and colour in kernels of 'Franquette' walnuts during 8-month storage. *Acta Horticulture*, 858, 75-81.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P.A., and Smith, F. 1956. Colometric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
- Ghirardello, D., Contessa, C., Valentini, N., Zeppa, G., Rolle, L., Gerbi, V. and Botta, R. 2013. Effect of storage conditions on chemical and physical characteristics of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 81:37-43.
- Horwitz, W., Senze, A., Reynolds, H., and Park, D.L. 1975. Official methods of analysis of the association of analytical chemists. Washington: Association of Official Analytical Chemists.
- Hosseini, H., Ghorbani, M., Sadeghi, A. R., and Maghsoudlou, Y., 2012. The effect of contact with the atmosphere and ambient temperature storage on the Oxidative Stability of Walnut. *Journal of Food Science and Technology of preceding studies*, 9: 358-348
- Hotchkiss, J. H. 1988. Experimental approaches to determining the safety of food packaged in modified atmospheres. *Food Technology*, 42(9), 55-64.
- Javanmard, M., 2017. Effect of modified atmosphere packaging and storage temperatures on quality of shelled raw walnuts. World Academy of Science, Engineering and Technology, *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 11(7), 510-514.
- Jensen, P.N., Sørensen, G., Brockhoff, P., and Bertelsen, G. 2003. Investigation of packaging systems for shelled walnuts based on oxygen absorbers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4941-4947.
- Johnson, D.R., and Decker, E.A. 2015. The role of oxygen in lipid oxidation reactions: a review. *Annual review of food science and technology*, 6, 171-190.
- Kacyn, L.J., Saguay, I., and Karel, M. 1983. Kinetics of oxidation of dehydrated food at low oxygen pressures. *Journal of Food Processing and Preservation*, 7(3), 161-178.
- Kader, A.A., and Thompson, J.E. 2002. Postharvest handling systems: tree nuts. In: Kader, A. (Ed.), *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. University of California, *Division of Agriculture and Natural Resources*, Oakland, pp. 399-406.
- Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M.C., and Lerici, C.R. 2000. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science and Technology*, 11, 340-346.
- Mao, X., Hua, Y. and Chen, G., 2014. Amino acid composition, molecular weight distribution and gel electrophoresis of walnut (*Juglans regia* L.) proteins and protein fractionations. *International journal of molecular sciences*, 15(2), 2003-2014.
- McGuire, R.G. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27, 1254-1255.
- Mexis, S.F., Badeka, A., Riganakos, K.A., Karakostas, K.X., and Kontominas, M. 2009. Effect of packaging and storage conditions on quality of shelled walnut. *Food Control* 20(8), 743-751.
- Mitcham, E. J., Veltman, R. H., Feng, X., and Castro, E. 2004. Application of radio frequency treatments to control

- insects in in-shell walnuts. *Postharvest Biology and Technology*, 33, 93–100.
- Necla, C. 2003. Biochemical and physical properties of some walnut genotypes (*Juglans regia* L.). *Nahrung/Food* 47No.1, pp. 28–32.
- Penter, M.G., Bertling, I. & Sippel, A.D. 2014. August. Factors affecting shelf life of South African macadamias. In XXIX International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, *Livelihoods and Landscapes* (IHC2014): 1109, 11-16.
- Piccirillo, P., Fasano, P., Mita, G., De Paolis, A. and Santino, A. 2004. November. Exploring the role of lipoxygenases on walnut quality and shelf-life. In V *International Walnut Symposium* 705: 543-545.
- Raisi, M., Ghorbani, M., Mahoonak, A.S., Kashaninejad, M. & Hosseini, H. 2015. Effect of storage atmosphere and temperature on the oxidative stability of almond kernels during long term storage. *Journal of Stored Products Research*, 62, 16-21.
- Savage, G. P. and McNeil, D. L. 2001. Oxidative stability of walnuts during long term in shell storage. *Acta Horticulture*, 544, 591-597.
- Shui, G., and Leong, L.P. 2002. Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by highperformance liquid chromatography, *Journal Chromatography A*, 977(1), 89-96.
- Talcott, S.T., Duncan, C.E., Pozo-Insfran, D.D., and Gorbet, D.W. 2005. Polyphenolic and antioxidant changes during storage of normal, mid, and high oleic acid peanuts. *Food Chemistry*, 89, 77–84.
- Young, C. K., and Cunningham, S. 1991. Exploring the partnership of almonds with cereal foods. *Cereal Foods World*, 36(5), 412-418.
- Vanhanen, L. P., and Savage, G. P. 2006. The use of peroxide value as a measure of quality for walnut flour stored at five different temperatures using three different types of packaging. *Food Chemistry*, 99(1), 64-69.
- Vasudevan, S.N., Shakuntala, N.M., Teli, S., Goud, S., and Gowda, B. 2014. Studies on effect of modified atmospheric storage condition on storability of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) seed kernels. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 2(2), 25-36.
- Wang, S., Monzon, M., Johnson, J.A., Mitcham, E. J., and Tang, J. 2007. Industrial-scale radio frequency treatments for insect control in walnuts.II: heating uniformity and energy efficiency. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 240–246.
- Zhi, H.B., and Han, Y.S. 2006. Study on Inhibiting of Walnut Rancidity. *Packaging Engineering*, 5, p.009.
- Sze-Tao, K.W.C., and Sathe, S.K. 2000. Walnuts (*Juglans regia* L.): proximate composition, protein solubility, protein amino acid composition and protein in vitro digestibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1393–1401.



The effect of packaging method on the physical, chemical, and organoleptic characteristics of walnut kernel during its storage

S. Rastegar¹, A. Shojaee², B. Tajeddin^{3*}

Received: 2017.11.18

Accepted: 2018.06.24

Introduction: Persian walnut (*Juglans regia*) from Juglandaceae family is one of the most important fruits in the world that has an important role in human health. It contains a notable list of plant nutrients that has been found to have disease preventing and health promoting properties. Walnut is a source of bioactive compounds such as phenolic and flavonoid complexes where they act as antioxidants and free radical scavengers. It also contains pleasant flavor and high concentration of minerals and fatty acids. Extending shelf-life of this perishable fruit has been accomplished due to its high oil level and oxidation of oil (Tajeddin, 2004). Rate of loss in walnut kernel quality and quantity between harvest and consumption affects its productivity. Control of temperature is the most effective tool for extending the shelf life of fresh horticultural products. However, to reduce high losses and keeping product's quality, packaging method is very important as well as low temperature. Therefore, in this study, the effect of temperature (4 and 25 °C) and packaging methods (vacuum and air packaging) on the changes of walnut kernel compounds was evaluated to improve quality of its storability during six month cold storage.

Materials and methods: Walnut harvested from a commercial garden at the mountain regional of Raber, Kerman province. All chemical materials for different tests obtained from Merck Company, Germany. Immediately after walnuts harvesting, they were dehulled and dried in expose of sun shade with the circulation of natural air. The walnuts were then transferred to the laboratory and their wooden shells were removed. Subsequently, about 25 g of walnut kernel was packaged in the polyethylene films with 87µm (0.087 mm) thickness, under a vacuum machine and stored at 4°C and 25°C to be later assessed for further analyses intended for six months. Phenol, flavonoid, carbohydrate, protein, water percent, color parameters (C, h, WI), organoleptic characteristics, and peroxide value of kernels were measured every month during storage time. The control samples of packaged walnuts under environmental conditions were also stored. The current study carried out as a factorial assay on the basis of a completely randomized design with three replications at Hormozgan University. Data were subjected to ANOVA using SAS software version 9.4. Verification of significant differences was done using Duncan's Test at 1% probability level.

Results and discussion: Results showed that carbohydrate and proteins decreased during storage time. Both of vacuum package and low temperature contorted the reduction of different characteristics of kernel such as bioactive compounds during storage significantly. Sensory properties were also reduced during storage, especially at the end of period, in all conditions except for treatment at 4°C and vacuum packing. Control samples (temperature 25°C and air-containing packages) during the experiment showed a lower quality for all factors. Samples that stored in low temperature and vacuum package had better brightness (higher chroma, H, lightness (L) and white index values (Wi)) than other treatments. The treatments had a significant role in the preventing of increasing peroxide value. The peroxide value in treated samples was increased from 0.023 to 0.68 meq/g, while in vacuum packages it was changed from 0.023 to 0.37 meq/g. Increasing of peroxide value was observed from 0.023 to 0.68 and from 0.023 to 0.25 meq/g in room temperature and cold temperature, respectively. After six months, the average peroxide value in all samples was less than one milliequivalent per

1. Assistant professor, Horticulture Group, Agriculture and Natural Resources College, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran.
 2. Postgraduate of Horticulture, Agriculture and Natural Resources College, Hormozgan University, Bandar abbas, Iran.
 3. Associate professor in Packaging Engineering, Agricultural Engineering Research Institute (AERI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
- (* Corresponding author: b.tajeddin@areeo.ac.ir ; behjat.tajeddin@yahoo.com)

oil kilogram. Decreasing of phenolic compounds (30%) and flavonoids (35%) and increasing the peroxide index simultaneously led to the reduction of the appearance and organoleptic properties of the control samples. Generally, vacuum package and low temperature condition that using in this study showed the best effect on the nutritional compounds quality of walnut kernel such as bioactive components during six months storage. Shelf life enhancement of walnut by vacuum packaging in the different polymers has been already reported by Tajeddin, 2004.

Keywords: Bioactive compounds, oxidation, Packaging, Peroxide value, Walnut



تعیین خواص کیفی، بافتی و حسی کیکهای روغنی تهیه شده با سبوس جوی دوسر و دانه کتان به عنوان جایگزین بخشی از چربی

سارا جامه‌در¹ - سارا موحد^{2*} - بابک غیائی طرزی³

تاریخ دریافت: 1393/06/28

تاریخ پذیرش: 1393/10/07

چکیده

جایگزین‌های چربی هر یک دارای ویژگی‌های منحصر به فردی بوده که به منظور افزایش کیفیت محصولات پخت می‌توان از آنها استفاده نمود در تحقیق حاضر از سبوس جوی دو سر و دانه کتان به عنوان بخشی از جایگزین چربی بر پایه کربوهیدرات در تهیه کیکهای روغنی استفاده گردید. سبوس جوی دو سر و آرد دانه کتان در سطوح متفاوت 20، 30 و 40 درصد (وزنی - وزنی روغن مصرفی) به عنوان جایگزین بخشی از چربی در کیک استفاده شد. نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی بر روی نمونه‌های کیک نشان داد که میزان پروتئین، فیبر، خاکستر و رطوبت در نمونه‌های حاوی سبوس جوی دوسر و دانه کتان در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی‌دار دارد ($P < 0.05$). همچنین مشخص گردید که افزودن سبوس جوی دوسر و دانه کتان در سطوح 20، 30 و 40 درصد در مقایسه با کیک شاهد در بهبود اکثر ویژگی‌های حسی، تأخیر در بیاتی، افزایش حجم مخصوص و بهبود بافت موثر بوده است اما نتایج رنگ سنجی مشخص نمود که فاکتورهای (L^*) و (b^*) در نمونه شاهد و فاکتور (a^*) در تیمار A₁ (نمونه حاوی 40% دانه کتان و 20% سبوس جوی دو سر) بیشتر از سایر نمونه‌ها بوده است. در نهایت در بین کلیه تیمارها، تیمار A₂ که جایگزین چربی آن شامل 40 درصد سبوس جوی دو سر و 20 درصد دانه کتان (نسبت 2 به 1) بود به عنوان بهترین تیمار معرفی گردید.

واژه‌های کلیدی: سبوس جوی دو سر، دانه کتان، جایگزین چربی، کیک روغنی، بیاتی

مقدمه

با نام علمی *Linum usitalissimum* گیاهی است یک ساله از تیره کتان که قادر به رشد در شرایط آب و هوایی گرم و خشک ایران بوده و از نظر ارزش تغذیه‌ای، منبع خوب اسیدهای چرب امگا-3، (آلفا لینولنیک اسید، ALA)، لیگنانها (نظیر فیتو استروئیدیک)، فیبر، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌ها می‌باشد. میزان جذب بالای آب توسط ترکیبات فیبری دانه کتان در محصولات نانوائی باعث افزایش حجم، بهبود کیفیت نان و نیز افزایش زمان ماندگاری محصول تولیدی می‌شود (Simopoulos & Artemis, 1999). جو دو سر گیاهی است از تیره غلات و از جنس *Avena* که در زبان انگلیسی "Oat" نامیده می‌شود. یکی از ترکیبات مهم در جوی دو سر، β -گلوکان است، ترکیب مذکور نام عامیانه پلیمر گلوکز بوده که در دیواره سلولی آندوسپرم جو و جوی دو سر یافت می‌شود و معمولاً 3-7 درصد وزن دانه را تشکیل می‌دهد و به عنوان فیبر رژیمی محلول و جایگزین چربی بر پایه کربوهیدرات طبقه‌بندی شده است (Wood, 2007). Lee و Inglett (2006) خصوصیات فیزیکی و رئولوژیکی سبوس جوی دو سر پخته را در کلوچه‌های کم کالری بررسی نمودند. سطوح متفاوتی از چربی ۲۰، ۱۰ و 30 درصد با سبوس جوی دوسر پخته جایگزین و مشخص گردید که با افزایش جایگزینی

یک جز فرآورده‌های قنادی محسوب می‌شود و دارای انواع مختلف با کالری متفاوت بوده و معمولاً کالری بالای موجود در انواع کیکها به دلیل روغن، تخم مرغ و شکر است که در فرمولاسیون آن استفاده شده است (Pabon et al., 1992). در تحقیق حاضر به جای چربی مصرفی از جایگزین‌های چربی بر پایه کربوهیدرات استفاده شده است. جایگزین‌های چربی بر پایه کربوهیدرات در حضور مقادیر قابل توجهی آب نوعی ماتریکس ژل مانند را تشکیل می‌دهند که باعث می‌شود خصوصیات محصولات از نظر نرمی و روانی، خصوصیات مشابه چربی‌ها داشته باشد. ترکیبات مذکور قادر به جذب آب بوده، غذا را تثبیت و به آن حجم و قوام می‌دهند (موحد، 1390). دانه کتان

1 و 2- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاداسلامی، واحدورامین - پیشوا، ورامین، ایران.

3- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

(*) - نویسنده مسئول: Email: movahed@iauvaramin.ac.ir
DOI: 10.22067/ifsstrj.v1395i0.39546

سبوس جوی دوسر، قطر کلوچه‌های تولیدی کمتر، میزان ارتفاع افزایش و پایداری چربی (کاهش عدد پراکسید) بیشتر گردیده است (Lee & Inglett, 2006). Moraes و همکاران (2010) به تولید کیک‌هایی با سطوح 5، 15، 30 و 45 درصد از آرد دانه کتان پرداختند. نتایج بیانگر آن بود که سطح فیبر غذایی و اسید لینولنیک محصول افزایش یافت. فرمولاسیون کیک با 45 درصد آرد دانه کتان به‌طور قابل توجهی پراکسیداسیون پائین‌تری نسبت به کیک‌های تهیه شده با غلظت‌های کمتر داشت. این نتیجه می‌تواند به اثر حفاظتی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در دانه کتان نسبت داده شود (Moraes et al., 2010). Tzia و Lebesi (2011) تاثیر جانشینی مقادیر 10، 20 و 30 درصد از آرد گندم با استفاده از مخلوط سبوس گندم، جوی دو سر، سبوس ذرت و برنج در کیک بررسی نمودند. نتایج نشان داد که افزودن فیبرهای مذکور باعث کاهش روشنایی (L*) رنگ مغز کیک‌ها در مقایسه با نمونه شاهد و کاهش بیاتی شد (Tzia & Lebesi, 2011).

هدف از انجام این تحقیق، افزودن سطوح متفاوت سبوس جوی دو سر و دانه کتان به‌عنوان بخشی از جایگزین چربی در کیک و تاثیر آنها بر ویژگی‌های شیمیایی، حجم، رنگ، بیاتی، بافت و ویژگی‌های حسی کیک بود.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه مورد نیاز جهت پخت کیک، شامل آرد گندم نول با درصد استخراج 70% (شرکت مهبد، شکر (شرکت پردیس)، شیرخشک بدون چربی (شرکت IDI، فرانسه)، پودر سفیده تخم‌مرغ (شرکت تلاونگ)، نمک طعام (شرکت گلها)، بیکینگ پودر (شرکت گلها)، روغن نباتی (شرکت لادن)، سبوس جوی دوسر و دانه کتان (شرکت سرو) بودند.

آزمون‌های شیمیایی نمونه آرد و کیک روغنی

آزمون‌های شیمیایی به‌عمل آمده روی آرد گندم، سبوس جوی دوسر، پودر دانه کتان، شامل اندازه‌گیری رطوبت (AACC به شماره 44-16)، خاکستر (AACC به شماره 08-01)، پروتئین (AACC به شماره 12-46)، چربی (AACC به شماره 30-10)، فیبر (AACC به شماره 32-10)، پراکسید (استاندارد ملی شماره 37)، pH (استاندارد ملی ایران شماره 37) بودند. همچنین آزمون‌های شیمیایی به‌عمل آمده روی نمونه‌های کیک، شامل رطوبت، خاکستر، چربی، پروتئین، pH، پراکسید و فیبر بودند که مطابق روش‌های استاندارد فوق انجام شدند (Anonymous, 2003, بی‌نام، 1385).

فرآیند تولید کیک

ابتدا مواد اولیه جهت انجام فرآیند پخت کیک که شامل 200 گرم

آرد گندم نول، 280 گرم شکر، 24 گرم شیر خشک بدون چربی، 18 گرم پودر سفیده تخم‌مرغ، 6 گرم نمک طعام، 11/5 گرم بیکینگ پودر، 250 میلی‌لیتر آب، روغن نباتی در سطوح متفاوت (100 گرم برای کیک شاهد و 40 گرم برای تیمارها)، سبوس جوی دو سر و پودر دانه کتان حرارت داده شده (در آون 180 درجه سلسیوس به مدت 13 دقیقه)، در سطوح مختلف (۲۰، ۳۰، ۴۰ گرم) تهیه و توزین گردید. سپس تیمارهای مورد آزمون تهیه شد. در ادامه جهت تهیه کیک، ابتدا روغن و شکر برای 2 دقیقه در میکسر مخلوط، سپس 250 میلی‌لیتر آب به آن افزوده و برای مدت 2 دقیقه دیگر مخلوط شد. پس از آن آرد گندم نول، سبوس جوی دو سر و پودر دانه کتان الک شده (با سطوح مختلف) با سایر مواد از جمله پودر سفیده تخم‌مرغ، شیرخشک بدون چربی، نمک طعام، بیکینگ پودر به بقیه آب اضافه و برای 1 دقیقه مخلوط شد. خمیر کیک پس از کمی ورز دادن و 2 دقیقه مخلوط کردن، برای دومین بار به مدت 4 دقیقه مخلوط گردید. در نهایت کیک در قالب ریخته شد و در دمای 170 درجه سلسیوس به مدت 35 دقیقه در فر تونلی پخت قرار گرفت (Lee & Inglett, 2006). در ادامه نمونه شاهد و حاوی سطوح متفاوت سبوس جوی دو سر و دانه کتان تحت ارزیابی رنگ، حجم، میزان بیاتی، ویژگی‌های حسی و شیمیایی قرار گرفتند و در انتها داده‌ها با آنالیز آماری بررسی شدند. لازم به ذکر است که در کلیه آزمون‌ها، تیمار شاهد (کیک حاوی 100 درصد چربی و آرد گندم نول با در صد استخراج 70%) با کد C، تیمار حاوی سبوس جوی دوسر و دانه کتان به نسبت 20 به 40 (وزنی - وزنی چربی مصرفی) به‌همراه 40 درصد چربی با کد A₁، تیمار حاوی سبوس جوی دوسر و دانه کتان به نسبت 40 به 20 (وزنی - وزنی چربی مصرفی) به‌همراه 40 درصد چربی با کد A₂، تیمار حاوی سبوس جوی دوسر و دانه کتان به نسبت 30 به 30 (وزنی - وزنی چربی مصرفی) به‌همراه 40 درصد چربی با کد A₃ مشخص شدند.

آزمون اندازه‌گیری حجم و حجم مخصوص کیک

جهت تعیین حجم نمونه‌های کیک تولیدی از روش ارائه شده توسط شرکت، Henrisaimon، انگلستان و دستگاه حجم‌سنج استفاده گردید. این دستگاه شامل سه بخش تحتانی (محفظه‌ای که دانه‌های کلزا برای صفر کردن و اندازه‌گیری در آن ریخته شد)، میانی یا گردن (برج مندرجی که هر درجه آن 25 سانتی‌متر مکعب است) و فوقانی (محفظه مربع شکل درب‌دار جهت ریختن دانه‌های کلزا برای تعیین حجم کیک) است (بی‌نام، 2000).

آزمون تعیین رنگ

جهت انجام آزمون تعیین رنگ، از دستگاه هانت‌رلب استفاده شد.

نمونه‌ها به‌طور جداگانه داخل کیسه‌های پلاستیکی در دمای محیط در کنار یکدیگر قرار داده شدند و سپس تمامی نمونه‌های کیک جهت ارزیابی میزان بیاتی به 10 داورحسی آموزش داده (پانلیست‌ها) داده شد و آنان بر اساس فرم مربوطه به نمونه‌های کیک امتیاز دادند (Anonymous, 2003).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور بررسی ویژگی‌های کمی داده‌ها با توجه به وجود چهار تیمار و سه تکرار، از آنالیز واریانس و نرم‌افزار SPSS نسخه 16 استفاده گردید. همچنین در صورت معنی‌دار بودن اثرات مورد بررسی در جدول تجزیه واریانس، مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال خطا 5 درصد انجام شد.

نتایج و بحث

جدول 1 نتایج ویژگی‌های شیمیایی نمونه‌های آرد گندم، دانه کتان آسیاب شده و سبوس جوی دو سر مصرف شده در تولید کیک می‌باشد. باتوجه به نتایج مقایسه میانگین در جدول 2 مشخص گردید که افزودن دانه کتان و سبوس جوی دوسر سبب افزایش پروتئین نمونه‌های کیک در مقایسه با تیمار شاهد گردیده است.

در بین کلیه تیمارها نمونه A1 و سپس A3 و بعد از آن A2 دارای بیشترین میزان پروتئین و نمونه شاهد دارای کمترین مقدار آن بود. از سویی بین کلیه تیمارهای مورد آزمون تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0/05$). افزودن دانه کتان و سبوس جوی دوسر در کاهش چربی نمونه‌های کیک در مقایسه با تیمار شاهد موثر بوده است. با توجه به نتایج مقایسه میانگین در جدول 2 مشخص شد که در بین کلیه تیمارهای مورد آزمون، نمونه شاهد دارای بیشترین مقادیر چربی و تیمارهای A2، A3 و A1 به‌ترتیب دارای کمترین مقدار چربی بودند از سویی بین کلیه تیمارهای مورد آزمون و شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید ($p < 0/05$).

دلیل کاهش چربی در نمونه‌های کیک‌های حاوی سبوس جوی دوسر و دانه کتان در مقایسه با نمونه شاهد، مصرف دانه کتان و سبوس جوی دو سر در فرمولاسیون کیک‌های تولیدی به‌عنوان بخشی از جایگزین چربی بر پایه کربوهیدرات بود و بنابراین استفاده از آنها در کاهش مقدار چربی کیک‌های تولیدی و در نتیجه کاهش کالری محصول موثر بوده است. نتایج حاصل با نتایج حاصل از تحقیقات Lee و Inglett (2006) مطابقت داشت که ارائه نمودند افزودن سبوس جوی دوسر به عنوان بخشی از جایگزین چربی باعث کاهش مقدار چربی در کلوچه‌های تولیدی شده بود. با توجه به جدول 2 مشخص گردید که افزودن دانه کتان و سبوس جوی دو سر، سبب

نمونه‌های کیک به‌ترتیب داخل دستگاه قرار گرفتند آزمون برای هر تیمار 3 بار تکرار شد. رنگ نمونه‌ها به‌وسیله بازتاب بر روی رنگ‌سنج هانت‌رلب با پارامترهای L^* (روشنایی)، b^* (زردی-آبی) و a^* (قرمزی-سبزی)، اندازه‌گیری شده و همچنین ΔE نشان‌دهنده اختلاف رنگ نمونه‌ها با شاهد است که از رابطه 1 محاسبه شد. در این فرمول ΔL^* اختلاف در روشنایی، Δb^* اختلاف در زردی-آبی و Δa^* اختلاف در قرمزی-سبزی هر نمونه با شاهد می‌باشد (Hutchings, 1999).

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

آزمون بیاتی به روش دستگاهی

به‌منظور تعیین میزان بیاتی نمونه‌های کیک، از دستگاه بافت‌سنج (350 10CT M، Rochdale، انگلستان) مطابق روش استاندارد AACC شماره 74-09 استفاده گردید. این آزمون در فواصل زمانی 3، 7 و 10 روز پس از پخت نمونه‌ها انجام گرفت. به این منظور نمونه کیک‌های تولیدی به‌طور جداگانه داخل کیسه پلاستیکی قرار گرفتند و کدگذاری شدند. پس از آن برش‌هایی از وسط کیک در ابعاد 2cm×2cm انتخاب گردید و در نهایت توسط دستگاه بافت‌سنج یا Instron تحت فشار قرار گرفت. میزان نیروی لازم جهت فشردن 50 درصد نمونه محاسبه گردید. پروب دستگاه به اندازه 50 درصد از بافت را فشرده کرد. نیروی وارد شده توسط سل بارگذاری دستگاه 5 الی 50 نیوتن همچنین سرعت پروب دستگاه 60mm/min و ارتفاع 25 mm بوده است. حداکثر نیروی فشار (F_{max}) وارد شده به نمونه در پایان عمل فشردن بر حسب نیوتن گزارش می‌شود (Anonymous, 2003).

آزمون‌های ارگانولپتیک نمونه‌های کیک

در این تحقیق، نمونه‌های کیک پس از خنک شدن و برش، کدگذاری گردید و توسط 10 ارزیاب آموزش دیده مورد بررسی قرار گرفت. ارزیابی در روز اول پخت، بر اساس ویژگی‌های کیک (رنگ پوسته، تناسب شکل، قابلیت جویدن، بافت، عطر و بو، طعم و مزه و...) بود که هر یک بنابر اهمیت، دارای امتیازاتی مطابق جداول 4 و 5 می‌باشد. داوران حسی (پانلیست‌ها) امتیاز مشخصی در محدوده 3 تا 15 امتیاز را که در فرم‌های ارزشیابی مشخص شده بود را برای نمونه‌های کیک تولیدی تعیین کردند (رجب‌زاده، 1383).

ارزیابی میزان بیاتی نمونه‌های تولیدی به روش حسی

در تعیین میزان بیاتی نمونه‌های کیک تولیدی از روش حسی (روش استاندارد AACC، شماره 30-74) استفاده گردید این آزمون در فاصله زمانی 3، 7 و 10 روز پس از پخت نمونه‌ها انجام شد و

افزایش میزان فیبر نمونه‌های کیک A1، A2 و A3 در مقایسه با تیمار شاهد شده است.

جدول 1- نتایج ویژگی‌های شیمیایی نمونه‌های آرد گندم نول با درصد استخراج 70، دانه کتان آسیاب شده و سبوس جوی دو سر

نمونه/ویژگی	پروتئین (%)	چربی (%)	فیبر (%)	خاکستر (%)	رطوبت (%)	پراکسید meq/1000	pH
آرد گندم	10/31	1/31	0/089	0/46	11/64	0/01	5
دانه کتان	21/43	43/86	13/16	3/03	4/1	4/18	5/2
سبوس جوی دوسر	15/81	6/72	8/29	3/13	6/3	0/53	5/7

جدول 2- نتایج مقایسه میانگین داده‌های آزمون شیمیایی در نمونه‌های کیک (حاوی سبوس جوی دو سر، دانه کتان و شاهد)

نمونه/ویژگی	پروتئین %	چربی %	فیبر %	خاکستر %	رطوبت %	پراکسید Meq/ 1000	pH
A ₁	11/87±1/11a	21/61±2/01b	4/483±0/81a	1/763±0/93c	22/81±1/17b	3/67±0/85a	5/16±0/95a
A ₂	10/39±1/2c	18/26±1/41d	2/33±0/85c	2/91±0/84a	24/91±1/84a	1/06±0/37c	6±0/71a
A ₃	10/8±1/1b	19/63±1/52c	2/75±0/91b	2/673±0/85b	24/53±1/52a	1/89±0/71b	5/4±0/91a
C	10/38±1/1c	38/41±2/11a	0/044±0/001d	1/403±0/73d	15/75±1/12c	1/13±0/65c	6/2±0/85a

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح 1 درصد اختلاف معنی دار ندارند.

مشاهده نگردید ($p < 0/05$). هرچند به لحاظ کمی بیشترین مقدار pH متعلق به نمونه شاهد و کمترین آن به تیمار A₁ بوده است.

ارزیابی نتایج حاصل از آزمون تعیین حجم مخصوص نمونه‌های کیک

با توجه به نتایج مقایسه میانگین حاصل از جدول 3 مشخص گردید که با افزودن دانه کتان و سبوس جوی دو سر میزان حجم مخصوص اکثر تیمارها در مقایسه با نمونه شاهد افزایش یافته به طوری که تیمار A₂ دارای بیشترین میزان حجم مخصوص و تیمار شاهد از کمترین آن برخوردار بود. تیمار A₂ به دلیل دارا بودن مقادیر بیشتر سبوس جوی دوسر در فرمولاسیون کیک در مقایسه با سایر تیمارها از بیشترین حجم مخصوص برخوردار بود زیرا سبوس جوی دو سر به دلیل داشتن ترکیبات موثر فیبری در افزایش ویسکوزیته، کمک به حفظ گاز CO₂ در خمیر و در نتیجه افزایش حجم مخصوص کیک مذکور نقش داشته است. در ضمن تیمار A₁ و سپس شاهد از کمترین میزان حجم مخصوص برخوردار بوده اند، هر چند هیچ گونه تفاوتی بین آنها مشاهده نگردید ($p < 0/05$). نتایج مذکور با نتایج حاصل از تحقیقات Gomez و همکاران (2010) مطابقت داشت که بیان نمودند افزودن ترکیبات فیبری، سبب افزایش انسجام و ویسکوزیته شده که چنین ویژگی در افزایش ظرفیت نگهداری آب و توسعه سلولهای گازی محصول موثر می باشد.

به عبارتی نمونه A₁ به دلیل سطوح مصرفی بیشتر دانه کتان در مقایسه با سایر تیمارها و بالا بودن مقادیر فیبر بیشتر در آن از بیشترین مقدار صفت مذکور (اختلاف معنی دار با سایر تیمارها) و پس از آن تیمارهای A₃ و A₂ (عدم تفاوت معنی دار با یکدیگر) قرار داشتند و نمونه شاهد دارای کمترین مقدار بود به عبارتی بین تیمارهای حاوی دانه کتان و سبوس جوی دو سر و شاهد اختلاف معنی داری مشاهده شد. با توجه به جدول 2 مشخص گردیده است که افزودن دانه کتان و سبوس جوی دو سر سبب افزایش میزان خاکستر نمونه‌های کیک در مقایسه با تیمار شاهد شده، به علاوه تیمارهای A₂ و A₃ و سپس A₁ بیشترین میزان خاکستر و رطوبت را نسبت به شاهد دارا بودند. دلیل افزایش رطوبت در نمونه‌های کیک حاوی سبوس جوی دو سر و دانه کتان در مقایسه با نمونه شاهد وجود مقادیر بیشتر فیبر موجود در دانه کتان و سبوس جوی دو سر در مقایسه با آرد گندم بوده است که در بالا رفتن ظرفیت نگهداری آب و جذب بیشتر رطوبت موثر بوده است. نتایج حاصل با پژوهش‌های به عمل آمده توسط Inglett و Lee (2006) مطابقت داشت. با توجه به جدول 2 مشخص گردید در بین کلیه تیمارها، تیمار A₂ که حاوی سبوس جوی دو سر بیشتری بود از کمترین میزان پراکسید (بیشترین پایداری چربی) برخوردار بوده و پس از آن تیمارهای شاهد، A₃ و A₁ قرار داشتند، ضمن آنکه تفاوت معنی دار بین تیمار A₂ با سایر تیمارها مشاهده گردید اما هیچگونه تفاوتی بین تیمار A₂ با شاهد مشاهده نشد ($p < 0/05$). همچنین مشخص گردید که از لحاظ میزان pH بین نمونه‌های کیک شاهد، A₁، A₂ و A₃ هیچگونه تفاوت معنی داری

A₃ به ترتیب از بیشترین مقدار صفت مذکور برخوردار بودند که نشان دهنده اختلاف بیشتر رنگ تیمارهای مذکور با شاهد بوده است (به دلیل وجود رنگدانه‌های بیشتر در دانه کتان و سبوس جوی دوسر) به علاوه تیمار A₂ از کمترین مقدار ΔE برخوردار بود. طی فرآیند پخت، تغییراتی در رنگ کیک اتفاق می‌افتد که مربوط به واکنش‌های میلارد و کاراملیزه شدن می‌باشد که نتیجه چنین واکنش‌هایی ایجاد رنگ قهوه‌ای - طلایی در محصول است. ترکیبات پروتئینی و قندی موجود در سبوس جوی دو سر و دانه کتان در فرمولاسیون کیک‌های مذکور می‌تواند بر شدت رنگ پوسته موثر باشد همچنین رنگرزی‌های طبیعی موجود در سبوس، بر شدت تیرگی رنگ نمونه‌ها تأثیر گذاشته است. نتایج مشابهی توسط Krishnan و همکاران (2011) و Vitali و همکاران (2009) در اثر افزودن فیبر به بیسکویت گزارش شده که ارائه نمودند بیسکویت‌های حاصل در مقایسه با بیسکویت‌های شاهد از ΔE و قرمزی بیشتری برخوردار بودند. به علاوه نتایج به دست آمده با نتایج حاصل از Gomez و همکاران در سال 2010 مطابقت داشت که عنوان نمودند فاکتور L* (روشنایی) با افزایش محتوای فیبر گندم کاهش می‌یابد. همچنین نتایج به دست آمده با نتایج حاصل از تحقیقات Lee و همکاران (2006) مطابقت داشت که بیان نمودند نان‌های حاوی فیبر از رنگ تیره‌تر، قرمزی (a*) بیشتر و روشنایی (L*) کمتر در مقایسه با نمونه شاهد برخوردار بودند.

ارزیابی نتایج حاصل از آزمون رنگ‌سنجی نمونه‌های کیک

باتوجه به نتایج مقایسه میانگین حاصل از جدول 3 مشخص گردید که افزودن دانه کتان و سبوس جوی دوسر سبب کاهش روشنی (L*) نمونه‌های کیک در مقایسه با تیمار شاهد شده است به طوری که در بین کلیه تیمارها، نمونه شاهد از بیشترین میزان روشنایی و پس از آن تیمار A₂ قرار داشت ضمن آنکه تیمارهای A₁ و A₃ از کمترین میزان روشنایی برخوردار بودند. همچنین بین کلیه تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید (p<0/05). همچنین از جدول مذکور مشخص می‌شود که با افزودن دانه کتان و سبوس جوی دو سر، فاکتور a* (قرمزی نمونه‌ها) در نمونه‌های نامبرده در مقایسه با شاهد افزایش یافته به طوری که تیمار A₁ و پس از آن A₃ دارای بیشترین میزان قرمزی و شاهد دارای کمترین میزان فاکتور a* بوده است در ضمن هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای A₂ و A₃ مشاهده نگردید (p<0/05). به علاوه مشخص گردید که فاکتور b* (زردی) در تیمار شاهد بیشترین مقدار بوده که به دلیل زردی طبیعی روغن مصرفی کیک تولیدی بوده است و پس از آن نمونه‌های A₁ و A₃ قرار داشتند که به دلیل سطوح مصرف بیشتر دانه کتان، از فاکتور b* بیشتری برخوردار بودند. تیمار A₂ دارای کمترین میزان b* بود. همچنین با توجه به نتایج جدول مذکور، در مقایسه رنگ نمونه‌های کیک با شاهد، ΔE (اختلاف رنگ نمونه با شاهد) در تیمارهای A₁ و

جدول 3- نتایج مقایسه میانگین آزمون رنگ‌سنجی و حجم مخصوص نمونه‌های کیک

تیمار/ ویژگی	L*	a*	b*	ΔE	حجم مخصوص (cm ³ /g)
A ₁	40/75±3/1d	15/55±2/52a	28/04 ±2/51b	18/45 ±2/8 a	1/54±0/21b
A ₂	45/35±3/11b	14/47±2/21b	26/73±2/31d	15/79 ±2/31 c	1/68±0/11a
A ₃	43/66±2/8c	14/51±1/81b	27/48±2/47c	16/24±2/11 b	1/64±0/11a
C	55/85±2/51a	11/72±1/51c	37/94±3/11a	—	1/46±0/16b

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح 1 درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

ویسکوزیته خمیر، کند شدن سرعت انتشار گاز، حفظ آن در مراحل اولیه پخت و در نتیجه محبوس نمودن گاز CO₂ و بخار آب در سلول‌های هوا بوده است. نتایج به دست آمده با نتایج حاصل از تحقیقات Shahzad Hossain و همکاران (2006) و Payne (2000) مطابقت داشت که ارائه نمودند آرد دانه کتان در بهبود حجم نان‌های تولیدی نقش داشته است. از نظر صفت تناسب و یکنواختی پشت کیک تیمارهای A₁ و A₂ (عدم تفاوت معنی‌دار با یکدیگر) دارای بالاترین امتیاز و تیمار شاهد از کمترین امتیاز صفت مذکور برخوردار بود (p<0/05). دلیل این امر به ویژگی‌های کاری جوی دو سر بر می‌گردد که به دلیل کند کردن سرعت انتشار گاز در خمیر، در حفظ گاز CO₂ و در نتیجه ایجاد تقارن بهتر کیک و تناسب آن موثر می‌باشد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در جدول 4 و 5

ارزیابی نتایج حاصل از آزمون حسی نمونه‌های کیک

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در جدول 4 مشخص شد که با افزودن دانه کتان و سبوس جوی دو سر، میزان رنگ پوسته و همچنین حجم به لحاظ کمی در تیمارهای A₂، A₃ و A₁ دارای بالاترین امتیاز (عدم اختلاف معنی‌دار با یکدیگر) و تیمار شاهد از کمترین امتیاز صفت مذکور برخوردار بوده است. از سویی بین کلیه تیمارهای حاوی دانه کتان و سبوس جوی دو سر با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (p<0/05). واکنش بین ترکیبات پروتئینی و قندی موجود در سبوس جوی دو سر و دانه کتان به دلیل واکنش‌های قهوه‌ای شدن در فرمولاسیون کیک‌های تولیدی بوده که باعث شدت رنگ پوسته آنها گردید. دلیل افزایش حجم در نمونه‌های کیک حاوی سبوس جوی دو سر و دانه کتان مربوط به افزایش

(2006) مطابقت داشت که بیان نمودند ترکیبات فیبری با انتشار یکنواخت گاز CO₂، در افزایش میزان تخلخل و حفره‌ای شدن بافت محصولات پخت موثر بوده است (Lee, 2006; Payn, 2000). وجود ترکیبات موثره نظیر برخی اسیدهای چرب غیراشباع و آلدئیدی در دانه کتان و سبوس جوی دوسر می‌تواند دلیل بهبود عطر و بوی نمونه‌های کیک تولیدی باشد (Lee et al., 2006). نتایج مذکور با تحقیقات به‌عمل آمده توسط Lee و همکاران (2006) مطابقت داشت.

معلوم شد که از نظر صفت ویژگی پوسته و شکستگی و پارگی، حفره‌ای و دانه‌ای بودن مغز کیک، رنگ مغز کیک، عطر و بو، طعم و مزه، قابلیت جویدن و بافت مغز کیک در تیمارهای حاوی سبوس جوی دو سر و دانه کتان تیمارهای A₁، A₂ و A₃ (عدم تفاوت معنی‌دار با یکدیگر) دارای بالاترین امتیاز و تیمار شاهد از کمترین میزان صفت مذکور برخوردار بود (p<0/05). نتایج حاصل با پژوهش‌های به‌عمل آمده توسط Payne (2000) و Lee و همکاران

جدول 4- نتایج مقایسه میانگین حاصل از ارزیابی حسی ویژگی‌های خارجی نمونه‌های کیک

تیمار/ویژگی	حجم	رنگ پوسته	تناسب شکل	یکنواختی پشت	ویژگی پوسته	شکستگی و پارگی
A ₁	9/63±0/91b	7/63±0/88a	2/9±0/18a	2/9±0/47a	2/9±0/11 a	2/9±0/11a
A ₂	9/96±0/85a	7/93±0/88a	2/73±0/11ab	2/8±0/31a	2/86±0/10a	2/9±0/13a
A ₃	9/86±0/8a	7/63±0/88a	2/5±0/11b	2/6±0/31b	2/66±0/11a	2/7±0/11b
C	8/5±0/89c	6/9±0/86b	1/9±0/15c	2/1±0/3c	2/26±0/13b	2/1±0/11c

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح 1 درصد اختلاف معنی دار ندارند.

جدول 5- نتایج مقایسه میانگین حاصل از ارزیابی حسی ویژگی‌های داخلی نمونه‌های کیک

تیمار/ویژگی	حفره‌ای و دانه‌ای بودن مغز کیک	رنگ مغز کیک	عطر و بو	طعم و مزه	قابلیت جویدن	بافت مغز
A ₁	9/9±0/54a	9/6±0/41a	9/3±0/47a	9/4±0/18a	14/3±1/11a	14/4±1/1a
A ₂	9/4±0/47b	8/3±0/35bc	9/3±0/51a	9±0/6b	13/9±0/95b	13/7±1/2b
A ₃	9/3±0/61b	8/4±0/35b	9±0/61b	9±0/6b	13/4±1/1c	13/7±0/98b
C	8/26±0/35c	8/2±0/31c	8/733±0/38c	8/4±0/47c	12/8±0/01d	12/3±0/89c

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح 1 درصد اختلاف معنی دار ندارند.

ارزیابی نتایج حاصل از میزان بیاتی کیک‌های تولیدی به روش حسی

با توجه به نتایج مقایسه میانگین ارزیابی بیاتی به روش حسی در نمودار 1 مشخص گردید که طی 3 روز پس از پخت، تیمار شاهد دارای بیشترین میزان بیاتی و دارای تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها و تیمارهای A₁، A₂ و A₃ (عدم تفاوت معنی‌دار با یکدیگر) به‌ترتیب از کمترین میزان بیاتی برخوردار بودند (P<0/05). همچنین در ارزیابی بیاتی به روش حسی پس از 7 و 10 روز پس از پخت، تیمارهای شاهد و A₃ (عدم تفاوت معنی‌دار با یکدیگر) دارای بیشترین میزان بیاتی (کمترین تازگی) و تیمارهای A₁ و A₂ (عدم تفاوت معنی‌دار با یکدیگر) از کمترین مقدار برخوردار بودند (p<0/05). به علاوه در ارزیابی بیاتی به روش حسی پس از 10 روز نیز، تیمار شاهد بیشترین میزان بیاتی و تیمارهای A₁، A₂ و A₃ از کمترین میزان بیاتی برخوردار بودند ضمن آنکه بین کلیه تیمارهای مذکور با شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. به‌عبارتی به‌کارگیری دانه کتان و سبوس جوی

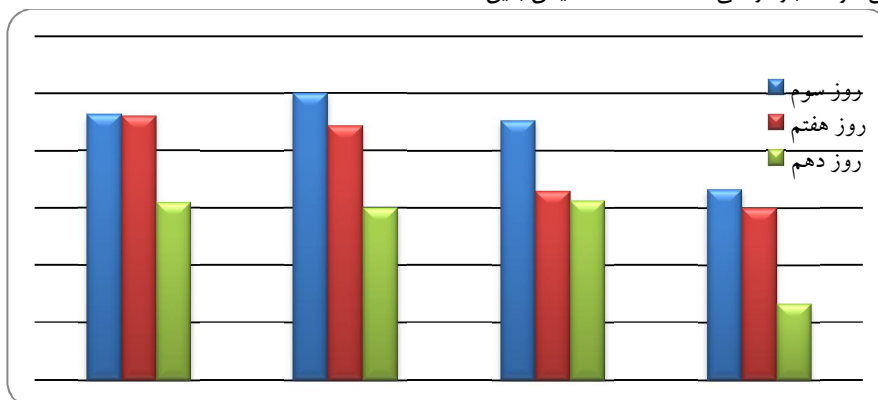
دو سر در کاهش میزان بیاتی نمونه‌های کیک تولیدی تاثیر داشته که دلیل این امر وجود مقادیر بالای ترکیبات فیبری به‌خصوص بتاگلوکان موجود در سبوس جوی دوسر بوده که از خاصیت آبدوستی فراوان برخوردار می‌باشد، ویژگی مذکور در کاهش بیاتی محصولات آردی موثر بوده است (Lee et al., 2006). نتایج حاصل با نتایج تحقیقات Rosell و همکاران (2001) تطابق داشت که عنوان نمودند وجود تعداد زیاد گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار فیبر از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی در افزایش جذب آب محصول نقش داشته و نتایج آن به تعویق افتادن بیاتی محصول بوده است (Rosell et al., 2001).

ارزیابی نتایج حاصل از میزان بیاتی کیک‌های تولیدی به روش دستگاهی

با توجه به نتایج مقایسه میانگین ارزیابی بیاتی به روش دستگاهی در شکل 2 مشخص گردید که طی 3، 7 و 10 روز پس از پخت، تیمار شاهد از بیشترین میزان بیاتی و تیمار A₂ از کمترین

نمونه شاهد و کلیه تیمارها تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/05$).

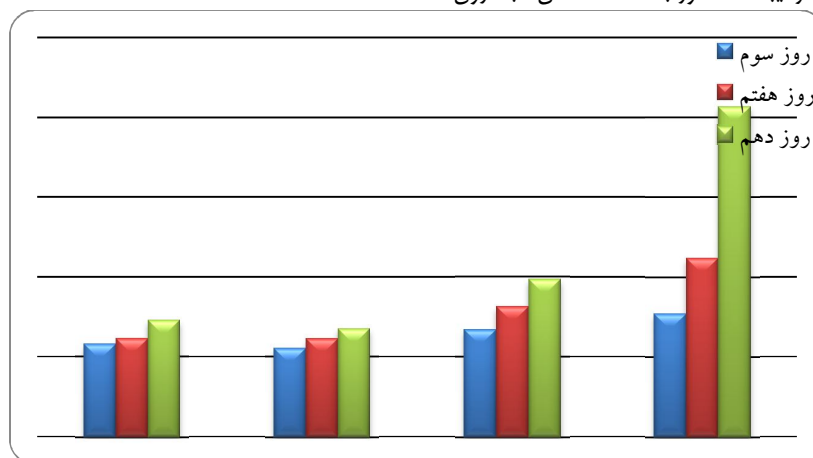
میزان بیاتی برخوردار بوده ضمن آنکه تفاوت معنی‌داری بین تیمار مذکور با تیمار A₁ طی سه بازه زمانی مشاهده نشد لیکن بین



شکل 1- نتایج آزمون بیاتی نمونه‌های کیک به روش حسی

ساختار خود می‌توانند بیاتی را به تأخیر بیندازد. به‌علاوه دانه کتان به علت مقادیر قابل توجه روغن و ترکیبات فیبری در کاهش سرعت بیاتی کیک‌های تولیدی نقش داشته است. نتایج مذکور با نتایج حاصل از تحقیقات Terhi و همکاران (2006) مطابقت داشت که عنوان نمودند به‌کارگیری روغن‌ها و ترکیبات فیبری می‌تواند در به تعویق انداختن سرعت بیاتی محصولات غله‌ای موثر باشد (Terhi et al., 2006).

به‌عبارتی به‌کارگیری 40 درصد سبوس جوی دوسر و 20 درصد دانه کتان در نمونه کیک A₂ در کاهش میزان بیاتی در مقایسه با سایر سطوح مصرفی، تأثیر بیشتری داشته است. دلیل کاهش بیاتی در نمونه‌های کیک حاوی دانه کتان و سبوس جوی دو سر در مقایسه با نمونه شاهد وجود مقادیر بالای فیبر بتاگلوکان موجود در سبوس جوی دو سر بوده که به شدت جاذب الرطوبه می‌باشد و در به تعویق انداختن بیاتی موثر است. ترکیبات مذکور با نگه داشتن آب درون



شکل 2- نتایج آزمون بیاتی کیک به روش دستگاهی

از کمترین آن برخوردار بود. از نظر عدد پراکسید، تیمار A₁ دارای بیشترین میزان پراکسید و نمونه شاهد از کمترین مقدار آن برخوردار بود. نتایج آزمون حجم مخصوص نمونه‌های کیک مشخص کرد که تیمار A₂ (حاوی سبوس جوی دوسر بیشتر) از بیشترین میزان و نمونه شاهد از کمترین مقدار آن برخوردار بوده است. نتایج آزمون رنگ‌سنجی نمونه‌های کیک نشان داد که میزان شدت روشنایی (L*)

نتیجه‌گیری

نتایج آزمون‌های شیمیایی بر روی نمونه‌های کیک تولیدی حاوی سبوس جوی دوسر و دانه کتان مشخص نمود که میزان پروتئین و فیبر در تیمار A₁ (حاوی دانه کتان بیشتر) از بیشترین و در تیمار شاهد از کمترین مقدار آن برخوردار بود. به‌علاوه میزان خاکستر و رطوبت در تیمار A₂ (حاوی سبوس جوی دوسر بیشتر) از بیشترین و نمونه شاهد

یک تولیدی به روش دستگاهی در روزهای 3، 7 و 10 روز پس از پخت نشان داد که تیمار شاهد دارای بیشترین میزان بیاتی و تیمارهای A₁ و A₂ از کمترین مقدار آن برخوردار بودند. در نهایت در بین کلیه تیمارها، تیمار 2 که جایگزین چربی آن شامل 40 درصد سبوس جوی دو سر و 20 درصد دانه کتان (نسبت 2 به 1) بود به عنوان بهترین تیمار معرفی گردید. در تحقیق حاضر از سبوس جوی دو سر و دانه کتان به عنوان بخشی از جایگزین چربی بر پایه کربوهیدرات در یک استفاده شد تا ضمن بهبود خواص کیفی، بافتی و حسی به تولید محصولی سالم تر با میزان چربی کمتر و ترکیبات تغذیه ای مطلوب تر منجر گردد.

در یک شاهد بیشترین و در تیمار A₁ (حاوی دانه کتان بیشتر) کمترین مقدار بود. همچنین مقدار قرمزی در تیمار A₁ بیشترین و در تیمار شاهد کمترین بود. مقدار زردی در تیمار شاهد بیشترین و در تیمار A₂ (حاوی سبوس جوی دوسر بیشتر) کمترین مقدار بود. نتایج ارزیابی ویژگی های حسی نمونه های یک تولید شده توسط پانلیست ها نشان داد که اکثر ویژگی های حسی در نمونه های یک حاوی سبوس جوی دوسر و دانه کتان نسبت به شاهد از امتیاز بالاتری برخوردار بودند. نتایج آزمون بیاتی نمونه های یک تولیدی به روش حسی در روزهای 3، 7 و 10 روز پس از پخت نشان داد که تیمار شاهد بیشترین میزان بیاتی و تیمارهای A₂، A₁ و A₃ به ترتیب از کمترین میزان بیاتی برخوردار بودند. نتایج آزمون بیاتی نمونه های

منابع

- بی نام، 1385، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، یک-ویژگیها و روش آزمون شماره 2553
بی نام، (2000)، روش استاندارد هنری سایمون انگلستان، اندازه گیری حجم یک
رجب زاده، ن، (1383)، مبانی فناوری غلات، دانشگاه تهران، جلد اول، 161ص
موحد، س، (1390)، علم نان، مرز دانش، 188 ص
- Anonymous, 2003, American Association of Cereal Chemists. (Approved Method).
Gomez, M., Ronda. P.A.Coballera., C.A, Blanco & C.M.Rosell, 2010, Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes. *Food Hydrocolloids*, 21(2), 167-173.
Hutchings, J.B., (1999), Food colour and appearance. Gaithersburg: Aspen.
Krishnan, P., Dharmaraj, U., Sai Manohat N G, and Malleshi R., 2011, Quality characteristics of biscuits prepared from finger millet seed coat based composite flour. *Food chemistry*, 129, 499-506.
Lebesi, D.M., Tzia, C., 2011, Effect of the addition of different dietary fiber and edible cereal bran sources on the baking and sensory characteristics of cupcakes. *Food Bioprocess Technol*, 4, 710-722.
Lee, Suyong, Inglett, G. E., 2006, Rheological and physical evaluation of Jet –Cooked oat bran in low calorie cookies. *International Journal of food Science and Technology*, 41, 553-559.
Moraes, E., Dentas, M., Moraes, D., Silva, C., Castro, F., Martino, H., Ribeiro, S., 2010, Sensory evaluation and nutritional value of cakes prepared with whole Flaxseed Flour. *Ciencia TechnolAlimen*, 30 (4), 947-979.
Pabon, C.V., Frutos, P., Lartres, J.L., Frutose, G., 1992, In vitro study of mixed controlled release matrix tablet containing HPMC and polyimide 12. *Drug Dev. Ind pharm*, 18, 2163-2173.
Payne T.J., 2000, Promoting better health with flaxseed in bread. *Cereal Foods in bread, Cereal Foods world*, 45, 192-104.
Rosell, C.M., J.A.Rojas & C.B.Barber, 2001, Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids*, 15, 75-87.
Shahzad Hossain, 2006, Physical and Sensoric Attributes of Flaxseed Flour Supplemented Cookies. Institute of Food Science and Technology of Agriculture, Faisalabad, Pakistan, 87-92.
Simopoulos, Artemise, P., 1999, the omega diet: the lifesaving nutritional program based on the diet of the Island of Crete.
Terhi A.Pohjanheimo, Mari A Hakala, Rajiv L.Tahvonon, Seppo J.Salminen, and Hekki P. Kallio, 2006, Flaxseed in Bread making: Effect on Sensory Quality, Aging and Composition of Bakery products. *Journal of food science*, 71, 4-7
Vitali D, and Dragojevic I V., 2009, Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fiber on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 144, 1462 -1469.
Wood, P.J., 2007, Cereal β -glucan in diet and health. *Journal of Cereal Science*, 46, 230-238.



Determining the qualitative, textural and sensory characteristics of oil cakes made with flaxseed and oat bran as a fat replacement

S. Jamehdor¹, S. Movahhed^{2*}, B.Ghiassi Tarazi³

Received: 2014.09.19

Accepted: 2014.12.28

Introduction: The cake is considered as the bakery products and has the different kinds with different calorie and often high calories in the kinds of cakes is due to the oil, eggs and sugar that is used in its formulation. In the present study the carbohydrate-based fat replacements are used instead of fats for consuming. The flaxseed with the scientific name of "Linum usitalissimum" is an annual plant from the family of flax and in terms of nutritional value it is a good source of omega-3 (alpha-linolenic acid, ALA), Lignans (such as phyto-estrogenic), fiber, protein, minerals and vitamins. The high amount of water absorption by flaxseed in bakery products leads to increase the volume and improve the quality of bread and also increase the shelf life of the product produced. The oat is a plant from the family of grains and from the genus of "Avena" called in English "Oat". One of the major compounds in the oat is β -glucan. The said compound is the common name of glucose polymers that is found in the endosperm cell walls of barley and oat and usually forms 3-7% of the seed weight and is classified as soluble dietary fiber and carbohydrate-based fat replacements. The purpose of this study was to add different levels of flaxseed and oat bran as a part of fat replacement in cake. Different Levels of shortening were replaced with Oat bran and flaxseed powder and their effects on the chemical characteristics, volume, color, staling and sensory characteristics of the cakes were examined.

Materials and methods: Raw materials needed to bake a cake included the null wheat flour (Mehbod Company) with extraction rate of 70%, sugar (Pardis Company), nonfat dry milk (IDI France Company), egg white powder (Talavang Company), table salt (Golha company), baking Powder (Golhan Company), oil (Ladan Company), flaxseed and oat bran (Sarv Company). Chemical tests performed on wheat flour, oat bran and flaxseed meal and samples of cakes included the measurement of moisture, ash, protein, fat, fiber, peroxide and pH were performed. For the production of cake the raw materials were prepared and were weighed. Then, the oil and sugar mixed for 2 minutes and then some water was added and mixed for 2 other minutes. Then, the null wheat flour, oat bran and flaxseed powder sieved with other materials were mixed. Finally, the cake was added to the mold and located in the tunnel oven at 170°C for 35 minutes for baking. In all the tests the control treatment (cake containing 100% fat and null wheat flour) with the code of C, the treatment containing the oat bran and flaxseed with the ratio of 20:40 (weight- weight of fat consumed) plus 40% of fat with the code of A₁, the treatment containing the oat bran and flaxseed with the ratio of 40:20 (weight - weight of fat consumed) plus 40% of fat with the code of A₂, the treatment containing the oat bran and flaxseed with the ratio of 30:30 (weight- weight of fat consumed) plus 40% of fat were determined with the codes of A₃ revealed. The method proposed by Henry Simon British Company and device of volumeter were used to determine the volume of cake samples produced. The test of determining the color the Hunter Lab device was used. In order to determine the amount of staling of the cake samples, the device of evaluating the texture or Instron was used. In this study, examined by 10 trained evaluators was used for organoleptic test of samples. In determining the amount of staling in the cake samples produced the sensory method was used. This test was conducted at the intervals of 3, 7 and 10 days after baking of the samples. In order to investigate the quantitative characteristics of data considering to the presence of four treatments and three replications, randomized block design, the analysis of variance and the software "SPSS", version 16, were used.

Results & discussion: The amount of protein and fiber in treatment of A₁ and in the control treatment was the highest and the lowest, respectively. In addition, the amount of ash and moisture in the treatment of A₂ and in the control treatment was the highest and the lowest, respectively. The treatment of A₁ and the control samples

1 And 2. Graduate Student and Associated Professor, Department of Food Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

3. Assistant Professor, Department of Food Science, Oloom-Tahghighat Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

(* Corresponding author: movahhed@iauvaramin.ac.ir)

had the highest and the lowest amount of peroxide, respectively. Results of specific volume test indicated that the treatment of A_2 and the control samples had the highest and the lowest amount of specific volume, respectively. The results of colorimetric test of cake samples indicated that the lightness (L^*) in the control cake and in the treatment of A_1 was the lowest and the highest amount, respectively. Moreover, the amount of redness in treatment of A_1 and control treatment was the highest and the lowest, respectively. The amount of yellowness in the control treatments and treatment of A_2 was the highest and the lowest, respectively. The results of evaluating the sensory characteristics of cake samples produced by panelists showed that most sensory characteristics of the cake samples containing flaxseed and oat bran compared with the control had higher rating. The results of staling test in the cake samples produced by sensory method showed that the control treatment had the highest amount of staling and the treatments of A_1 , A_2 and A_3 had the lowest amount of staling, respectively. The results of staling test using device method showed that the control treatment had the highest amount of staling and the treatments of A_1 and A_2 had the lowest amount of staling, respectively. Finally, the treatment of A_2 was introduced as the best treatment. In the present study, oat bran and flaxseed seed were used as a part of carbohydrate-based fat replacements in the cake to produce a healthier products with less fat and better nutritional compounds while improving the qualitative characteristics.

Keyword: Oat bran, Flaxseed, Fat replacer, Oil Cake, Staling



پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه بادمجان در خشک‌کن پیوسته با استفاده از روش‌های جدید

محمد کاوه^{1*} - رضا امیری چایجان² - یوسف عباسپور گیلانده³ - ترحم مصری گندشمن⁴

تاریخ دریافت: 1396/04/23

تاریخ پذیرش: 1396/12/24

چکیده

در این پژوهش، به منظور برآورد خواص خشک‌کردن بادمجان در یک خشک‌کن پیوسته از روش شبکه‌های عصبی مصنوعی (ANN)، الگوریتم بهینه‌سازی توده ذرات (PSO) و الگوریتم گرگ خاکستری (GWO) استفاده شد. فرآیند خشک‌کردن در سه سطح دمایی (45، 60 و 75°C)، سه سطح سرعت هوا (1 و 1/5 و 2 m/s) و سه سطح سرعت خطی تسمه (2/5، 5/6 و 10/5 mm/s) در یک خشک‌کن پیوسته صورت گرفت که این سه پارامتر به عنوان ورودی در پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه، در مدل‌های ANN، PSO و GWO مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش‌ها برای خشک‌کردن بادمجان از رطوبت (%d.b.) 1025 تا زمانی که رطوبت نهایی به (%d.b.) 10 رسید انجام گرفت. با توجه به نتایج به‌دست آمده، بیشترین مقدار ضریب پخش رطوبت موثر (D_{eff}) برای بادمجان ($1/14 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$) حاصل شد. همچنین کمترین مقدار انرژی مصرفی ویژه ($130/62 \text{ MJ/kg (SEC)}$) به‌دست آمد. پس از آن 27 نمونه آماده با توجه به استانداردهای مربوطه و مجموعه داده‌ها به‌دست آمد. سپس با توجه به چندین شاخص عملکرد، از جمله ضریب تعیین (R^2)، میانگین مربعات خطا (MSE) و میانگین خطای مطلق (MAE)، مدل‌ها مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند و بهترین مدل پیش‌بینی انتخاب شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده مقدار R^2 برای مدل GWO به ترتیب 0/9996 و 0/9994 برای ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی نشان‌دهنده برتر بودن مدل GWO نسبت به سایر مدل‌ها می‌باشد، در حالی که این مقادیر به ترتیب 0/9992 و 0/9991 برای PSO و 0/9988 و 0/9990 برای ANN به‌دست آمد. نتایج نشان داد که مدل GWO دارای ظرفیت بیشتری برای پیش‌بینی D_{eff} و SEC در مقایسه با دیگر مدل‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بادمجان، ضریب پخش رطوبت موثر، انرژی مصرفی ویژه، ANN، PSO و GWO.

مقدمه

با این حال در حالت عادی عمر مفید بادمجان برای نگهداری بسیار محدود می‌باشد. بنابراین برای نگهداری این نوع محصولات سبزی از روش‌های متداول خشک‌کردن برای حفظ انبارمانی و کیفیت نهایی آن‌ها می‌توان استفاده نمود. خشک‌شده این محصولات با داشتن خواص دارویی مختلف در انواع مختلف غذاها از جمله سوپ، سس و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرند.

خشک‌کردن یکی از قدیمی‌ترین روش‌های مورد استفاده برای نگهداری مواد غذایی، میوه‌ها و سبزیجات می‌باشد. در طی فرآیند خشک‌کردن، آب از ماده غذایی یا محصول کشاورزی خارج شده و در نتیجه امکان رشد میکروارگانیسم‌ها و ایجاد واکنش‌های شیمیایی نامطلوب به حداقل رسیده و مدت زمان نگهداری مواد غذایی، میوه‌ها و سبزیجات افزایش می‌یابد (Beigi, 2017). مطالعات متعددی در مورد خشک‌کردن محصولات کشاورزی با خشک‌کن پیوسته مانند هویج (Aghbashlo et al., 2011)، سیب‌زمینی (Aghbashlo et al., 2009a)، هویج (Aghbashlo et

بادمجان (*Solanum melongena* L) یکی از مهم‌ترین سبزیجات در بازار کشورهای آسیایی و حوزه دریای مدیترانه می‌باشد. ایران یکی از بزرگترین تولیدکنندگان بادمجان در جهان محسوب می‌شود (FAO, 2010). بادمجان حاوی انواع مواد شیمیایی گیاهی مانند فتولیک و فلاونوئیدها می‌باشد. از نظر آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنلی در میان 10 سبزیجات از رتبه بالایی برخوردار می‌باشد (Amiri, Chayjan and Kaveh, 2016).

- 1- دانشجوی دکترای مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
 - 2- دانشیار، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.
 - 3- استاد، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه شهید محقق اردبیلی.
 - 4- دانشیار، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه شهید محقق اردبیلی.
- (*) - نویسنده مسئول: Email: sirwankaweh@uma.ac.ir

DOI: 10.22067/food.v14i5.66106

مدل شده است. این الگوریتم به منظور کشف الگوهای حاکم بر پرواز همزمان پرندگان و تغییر ناگهانی مسیر آنها و تغییر شکل بهینه‌دسته به کار گرفته می‌شود. در PSO، ذرات در فضای جستجو جاری می‌شوند. تغییر مکان ذرات در فضای جستجو تحت تأثیر تجربه و دانش خودشان و همسایگانشان است. بنابراین موقعیت دیگر توده ذرات روی چگونگی جستجوی یک ذره اثر می‌گذارد. نتیجه مدل‌سازی این رفتار اجتماعی، فرآیند جستجویی است که ذرات به سمت نواحی موفق میل می‌کنند. ذرات از یکدیگر می‌آموزند و بر مبنای دانش به دست آمده به سمت بهترین همسایگان خود می‌روند. اساس کار PSO بر این اصل استوار است که در هر لحظه هر ذره مکان خود را در فضای جستجو با توجه به بهترین مکانی که تاکنون در آن قرار گرفته است و بهترین مکانی که در کل همسایگی‌اش وجود دارد، تنظیم می‌کند (Kamboj, 2016).

الگوریتم بهینه‌سازی گرگ خاکستری (GWO) الگوریتم فراابتکاری است که برای اولین بار توسط میرجلیلی و همکاران (2014) توسعه یافته است (Mirjalili et al., 2014). الگوریتم GWO تقلید رفتار شکار گرگ خاکستری در طبیعت است. روش GWO الهام گرفته از گرگ خاکستری (Canis Lupus) متعلق به خانواده سگ‌سانان می‌باشد. گرگ خاکستری در یک زندگی بسته و به اندازه یک گروه 5-12 می‌باشند (Medjahed et al., 2016). رهبر گروه که نام آلفا است و مسئول تصمیم‌گیری در مورد: کار، خواب، مکان و ... می‌باشد. گرگ دوم به نام بتا که در تصمیم‌گیری به گرگ آلفا کمک می‌کند. گرگ بتا باید به آلفا احترام بگذارد. پایین‌ترین رتبه‌بندی گرگ خاکستری امگا نام دارد و وظیفه آن دادن اطلاعات به گرگ‌های بالاتر و حالت سپر بلا را دارد. بقیه گرگ خاکستری دلتا نامیده می‌شود و بر گرگ امگا تسلط دارد. نقش گرگ دلتا به عنوان پیشاهنگان، نگهبانان بزرگان و شکارچیان قلمداد می‌شود (Sulaiman et al., 2015).

روند شکار گرگ خاکستری به شرح زیر است (Medjahed et al., 2016):

(الف) پیگیری، تعقیب و نزدیک شدن به طعمه، (ب) محاصره و آزار و اذیت طعمه و (ج) حمله به سمت طعمه.

استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی توسط محققین زیادی برای خصوصیات خشک کردن محصولات کشاورزی استفاده شده است از جمله: Amiri Chayjan و همکاران (2014) برای پیش‌بینی نرخ ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه آلبالو با استفاده از خشک‌کن مادون قرمز، Fazaeli و همکاران (2010) برای پیش‌بینی خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی توت با استفاده از خشک‌کن پاششی، Ghaderi و همکاران (2012) برای پیش‌بینی نرخ خشک‌کردن، نسبت رطوبت خشک‌کردن قارچ با استفاده از خشک‌کن مایکروویو - خلاء و Kaveh و Amiri Chayjan (2015)، برای

al., 2009b)، شلغم (Kaveh and Amir Chayjan, 2017) و بنه (Amiri Chayjan et al., 2017) انجام شده است.

شبکه‌های عصبی مصنوعی (ANN) یک تکنیک محاسبات نرم با الهام از پردازش اطلاعات مغز انسان است که برای حل بسیاری از مشکلات رشته‌های مهندسی با موفقیت عمل کرده است. ایده اصلی این شبکه‌ها با الهام از سلول‌های مغزی انسان است که برای پردازش داده‌ها به منظور یادگیری و ایجاد دانش است. پردازش اطلاعات توسط سیستم پردازش چند عنصری ساده که بصورت به هم پیوسته هستند و به عنوان گره‌ها یا سلول‌های عصبی در لایه شبکه شناخته شده‌اند (Hajihassani et al., 2014). شبکه‌های عصبی است توسط سه ویژگی توصیف می‌شود: 1) الگوی ارتباط بین سلول‌های عصبی (شبکه معماری)، 2) استفاده از روش تعیین وزن و ارتباطات بین نرون‌ها (الگوریتم آموزش) و 3) تابع فعال‌سازی (وضعیت قرارگیری هر یک از نرون است که یک تابع از ورودی دریافت می‌کند). شبکه‌های عصبی مصنوعی (ANN) یک روش بهینه‌سازی با روند آموزش است و هدف آن پیدا کردن مجموعه‌ای از وزن‌ها برای به حداقل رساندن اندازه‌گیری خطا (Saghatforoush et al., 2016).

الگوریتم‌های فرا ابتکاری به سه دسته اصلی طبقه‌بندی می‌شوند: 1) الگوریتم‌های مبتنی بر فیزیک: بازپخت شبیه‌سازی شده (SA)، الگوریتم جستجوی گرانشی (GSA)، الگوریتم بهینه‌سازی واکنش شیمیایی مصنوعی (ACROA) 2) الگوریتم هوش گروهي (SI): الگوریتم الهام گرفته خفاش (BA)، بهینه‌سازی کلونی مورچه (ACO)، بهینه‌سازی ازدحام ذرات (PSO) و کلونی زنبور عسل مصنوعی (ABC) 3) الگوریتم‌های تکاملی: تکامل تفاضلی (DE)، الگوریتم ژنتیک (GA)، گرگ خاکستری بهینه‌ساز (GWO) و استراتژی تکامل (ES) (Amirsadri et al., 2017).

هوش جمعی خاصیتی است سیستماتیک که در این سیستم، عامل‌ها به‌طور محلی با هم همکاری می‌نمایند و رفتار جمعی تمام عامل‌ها، باعث یک همگرایی در نقطه‌ای نزدیک به جواب بهینه سراسری می‌شود. نقطه قوت این الگوریتم عدم نیاز به یک کنترل سراسری می‌باشد. هر ذره (عامل) خود مختاری نسبی دارد که می‌تواند در سراسر فضای جواب‌ها حرکت کند و می‌بایست با سایر ذرات (عامل‌ها) همکاری داشته باشد. از الگوریتم‌های مشهور هوش جمعی، بهینه‌سازی توده ذرات و الگوریتم گرگ خاکستری می‌باشند. الگوریتم بهینه‌سازی توده ذرات برای اولین بار در سال 1995 توسط Kennedy and Eberhart به‌عنوان یک روش جستجوی غیرقطعی برای بهینه‌سازی تابعی مطرح گشت. این الگوریتم از حرکت دسته جمعی پرندگانی که به دنبال غذا می‌باشند الهام گرفته شده است (Ghasemi, 2016). الگوریتم PSO یک الگوریتم جستجوی اجتماعی است که از روی رفتار اجتماعی دسته‌های پرندگان و ماهی

ساعت در دمای 70°C با استفاده از روش آون داغ مقدار رطوبت اولیه بادمجان به دست آمد (Amiri Chayjan and Kaveh 2016). رطوبت اولیه بادمجان با روش آون داغ به $(\%d.b.)$ 1025 محاسبه شد.

خشک‌کن آزمایشگاهی و تجهیزات مورد استفاده

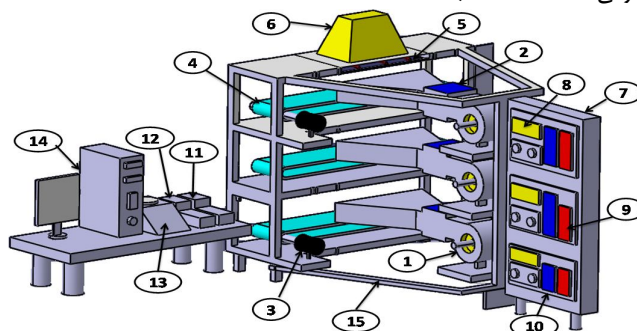
برای انجام آزمایش‌ها از یک خشک‌کن پیوسته نیمه صنعتی موجود در گروه مهندسی بیوسیستم دانشگاه بوعلی سینا همدان استفاده گردید. نمای شماتیک خشک‌کن مورد استفاده در شکل 1 نشان داده شده است. دستگاه خشک‌کن دارای سه طبقه می‌باشد که در هر طبقه دمای هوای ورودی، سرعت هوای ورودی و سرعت حرکت تسمه قابل تغییر هستند. هر طبقه شامل یک دمنده گریز از مرکز قابل تنظیم با قدرت یک اسب و میزان چرخش 3000 دور بر دقیقه بود. نمونه‌های بادمجان برای طی یک سیکل بایستی هر سه طبقه را طی کند. اصول کلی کار این دستگاه بدین صورت می‌باشد که مواد بعد از وارد شدن به ابتدای طبقه اول در مدت زمان مشخص با توجه به سرعت تسمه حرکت کرده و سپس تحت تأثیر وزن خود وارد طبقه دوم می‌شوند و به همین ترتیب از طبقه دوم به طبقه سوم می‌روند. بین طبقات صفحه‌های شیبدار فلزی قرار داده شده تا مواد را برای ورود به هر طبقه هدایت کنند. سرعت دمنده‌ها توسط اینورتر دلتا نوع S کنترل می‌شود. دمای ورودی محفظه خشک‌کن در هر طبقه توسط 16 المنت حرارت با توان $4/8$ کیلووات تامین و توسط ترموستات (آتین، ایران) با قابلیت تفکیک $0/1^{\circ}\text{C}$ کنترل می‌شود. کانال هوای ورودی برای توزیع یکنواخت هوای گرم در داخل محفظه خشک‌کن طراح شد. برای جلوگیری از هدررفت گرما، از عایق پلی‌اورتان در بدنه خشک‌کن استفاده شد.

پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر، انرژی مصرفی ویژه، چروکیدگی، نرخ خشک‌کردن و نسبت رطوبت بنه با استفاده از خشک‌کن بستر سیال از شبکه‌های عصبی مصنوعی استفاده نمودند. در حالی که استفاده از الگوریتم‌های PSO و GWO در پیش‌بینی فرآیند خشک‌کردن هنوز مورد استفاده قرار نگرفته‌اند.

با این حال با توجه به مطالعات صورت گرفته، بررسی‌ای در مورد فرآیند خشک‌کردن بادمجان با خشک‌کن پیوسته همچنین تخمین پارامترهای خشک‌کردن آن‌ها با شبکه‌های عصبی مصنوعی، الگوریتم بهینه‌سازی ذرات و الگوریتم گرگ خاکستری صورت نگرفته است. با توجه به ضرورت‌های بیان شده هدف از این پژوهش، تعیین و پیش‌بینی مشخصه‌های خشک‌کردن از جمله ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه بادمجان پس از خشک‌کردن با خشک‌کن پیوسته با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی (ANN)، الگوریتم بهینه‌سازی ذرات (PSO) و الگوریتم گرگ خاکستری (GWO) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

بادمجان تازه با درجه رسیدگی و رنگ یکنواخت از بازار محلی در شهر همدان خریداری و تهیه گردید. برای جلوگیری از کاهش رطوبت اولیه محصولات، نمونه‌های مورد آزمایش، تا زمان انجام شروع آزمایش‌ها داخل دو پلاستیک به صورت جداگانه، در داخل یخچال با دمای $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ نگهداری شد. برای انجام آزمایش‌ها، به منظور رسیدن به دمای اتاق، نمونه‌ها دو ساعت قبل از برش‌زدن از یخچال خارج می‌شدند. نمونه‌ها با استفاده از دستگاه کاتر از مقطع عرضی با ضخامت سه میلی‌متر برش داده می‌شد. برای تعیین رطوبت اولیه بادمجان از نمونه‌های ورقه‌ای 20 گرمی استفاده شد که به مدت 24



شکل 1- شماتیک خشک‌کن پیوسته نیمه صنعتی: (1) پنکه و الکتروموتور (2) گرم‌کننده الکتریکی (3) گیربکس (4) تسمه (5) لامپ مادون قرمز (6) محل خروج هوا و رطوبت (7) صفحه کنترل سرعت تسمه (8) اینورتر و ترموستات (9) سنسور دما و رطوبت (10) دماسنج (11) رطوبت‌سنج (12) تراز (13) کامپیوتر (14) ساسی

دلتا نوع B کنترل می‌شد، به چرخش در می‌آمدند. ابعاد خشک‌کن (ارتفاع 2/5 متر، طول 2 متر و عرض آن 50 سانتی متر) بود همچنین عرض تسمه‌ها 20 سانتی متر و طول آن در هر طبقه

تسمه‌های مورد استفاده در خشک‌کن مخصوص مواد غذایی است و توسط یک موتور با توان یک اسب بخار و میزان چرخش 700 دور در دقیقه در جعبه دنده (VF86 1/100، ایران) که توسط اینورتر

دقیقه) و برای یک دور سرعت 10/5 میلی متر بر ثانیه (2/38 دقیقه) طول کشید.

برازش منحنی‌های خشک کردن

نسبت رطوبت با توجه به رطوبت اولیه، رطوبت تعادلی و رطوبت نمونه‌ها در هر لحظه در طول خشک کردن بادمجان به وسیله رابطه (1) محاسبه گردید (Junqueira et al., 2017):

$$MR = \frac{M_a - M_e}{M_o - M_e} \quad (1)$$

که در آن MR نسبت رطوبت (بدون بعد)، M_o نسبت رطوبت در زمان t و M_e به ترتیب، رطوبت اولیه و رطوبت تعادلی بر پایه خشک (d.b.) می‌باشند.

برای زمان‌های طولانی خشک شدن در خشک کن پیوسته، مقدار M_e در مقایسه با مقادیر M_o و M_a خیلی کوچک می‌باشد بنابراین این رابطه از فرم زیر پیروی می‌کند (Darici and Sen, 2015):

$$MR = \frac{M_a}{M_o} \quad (2)$$

تعیین ضریب پخش رطوبت موثر

قانون دوم فیک برای شرایط لایه نازک در بادمجان با فرض ناچیز بودن اثرات دما و مجموع گرادیان فشار می‌توان انتقال رطوبت در مرحله نزولی فرآیند خشک کردن را توصیف کند. با فرض اینکه در فرآیند خشک کردن بادمجان، ضریب پخش رطوبت موثر ثابت و شعاعی است می‌توان مقدار آن را از رابطه 3 محاسبه نمود (Kaveh and Amiri Chayjan., 2017):

$$MR = \frac{M_a - M_e}{M_o - M_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left(- (2n+1)^2 \pi^2 \frac{D_{eff} x}{4L^2} \right) \quad (3)$$

$$\ln(MR) = \ln \left(\frac{M_a - M_e}{M_o - M_e} \right) = \ln \left(\frac{8}{\pi^2} \right) - \left(\frac{D_{eff} \pi^2 x}{4L^2} \right) \quad (4)$$

(5)5

می‌شوند و با لگاریتم گیری از طرفین خواهیم داشت (Aghbashlo et al., 2011; Amiri Chayjan et al., 2017):

150 سانتی متر بود. بادمجان در سطح لایه‌های بیرونی رطوبت قابل توجهی دارد، از این رو در مرحله اول از اشعه مادون قرمز استفاده شده است که برای کاهش بیشتر رطوبت سطحی کاربرد دارد. برای توزین نمونه‌ها در حین مراحل خشک کردن از یک ترازوی دیجیتال (AND GF- 600، ژاپن) با درجه تفکیک 0/001 گرم استفاده شد. برای اندازه گیری سرعت هوای ورودی به محفظه خشک کن، از یک بادسنج پره‌ای (YK-Lutron, 80AM) ساخت کشور تایوان مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه گیری دمای محیط و محفظه خشک کن و همچنین رطوبت نسبی هوا، از دستگاه رطوبت سنج - دماسنج لوترون (Lutron, YK-2005RH, Taiwan) استفاده شد. آزمایشها در سه سطح دمایی 45، 60 و 75 درجه سلسیوس و سرعت هوای 1، 1/5 و 2 متر بر ثانیه و سرعت تسمه 2/5، 6/5 و 10/5 میلی متر بر ثانیه انجام شد.

نحوه انجام آزمایش

قبل از شروع آزمایشها، دستگاه خشک کن به مدت نیم ساعت برای رسیدن به شرایط تعادل پایدار زودتر روشن می‌شد. آزمایشها با برش‌های بادمجان با ضخامت سه میلی متر در سه سطح دمایی (45، 60 و 75°C) و سه سطح سرعت هوا ورودی (1 و 1/5 و 2 m/s) و سه سطح سرعت خطی تسمه (2/5، 6/5 و 10/5 mm/s) صورت گرفت و تغییرات وزنی آن‌ها در فواصل زمانی مشخص، با استفاده از ترازوی دیجیتالی ثبت گردید. در نهایت تمامی فرآیند آزمایشها از رطوبت اولیه (%d.b.) 1025 برای بادمجان تا زمانی که رطوبت نهایی بادمجان به (%d.b.) 10 می‌رسید متوقف می‌شد. تمامی آزمایشها در سه تکرار انجام گرفت. برای سرعت تسمه 2/5 میلی متر بر ثانیه یک دور حرکت تسمه 10 دقیقه، برای سرعت 6/5 میلی متر بر ثانیه 3/84

که در آن n تعداد جملات معادله (1، 2، 3، ...)، L نصف ضخامت نمونه‌ها (m) و D_{eff} ضریب پخش رطوبت موثر (m^2/s)، x موقعیت روی تسمه (m) و U_r سرعت حرکت تسمه (m/s) است. وقتی t افزایش می‌یابد، تمام جملات به غیر از جمله اول، صفر

که در آن SEC_{band} انرژی مصرفی ویژه خشک‌کن پیوسته Q ، (J/kg) هوای ورودی به اتاق خشک‌کن (m^3/min) ، t مان کل خشک‌کردن (دقیقه) T_{in} و T_{am} به ترتیب دمای ورودی به خشک‌کن و دمای محیط، m_v مقدار انتقال جرم (kg) و V_h حجم ویژه هوا (m^3/kg) ، C_{pa} و C_{pv} به ترتیب ظرفیت گرمایی ویژه بخار و هوا $(J/kg^\circ C)$ و $1004/16$ و $1828/8$ ، h_a رطوبت مطلق هوا (kg vapor/kg dry air) می باشد.

طراحی روند آموزش شبکه‌های عصبی مصنوعی

ساختار عمومی شبکه عصبی پرسپترون چند لایه در شکل 2 نشان داده شده است. از این شبکه برای پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه با سه نرون در لایه اول که برابر با تعداد ورودی‌ها از جمله دمای هوای ورودی، سرعت هوای ورودی و سرعت خطی تسمه بوده است استفاده شد. همچنین در لایه خروجی از یک نرون (ضریب پخش رطوبت موثر یا انرژی مصرفی ویژه) استفاده شد.

$$MR = \left(\frac{8}{\pi^2} \right) \exp \left(- \frac{\pi^2 D_{eff} \frac{x}{U_r}}{4L^2} \right) \quad (5)$$

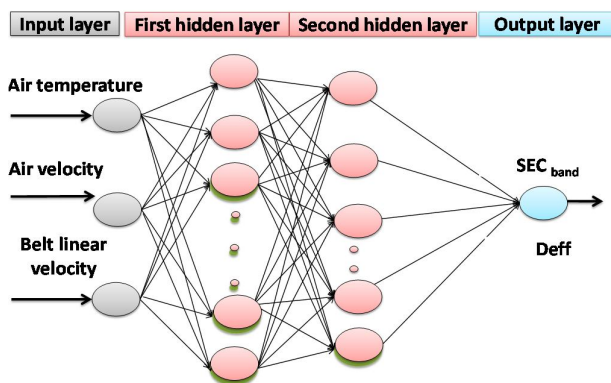
با رسم $\ln(MR)$ نسبت به زمان و مساوی قرار دادن این شیب با ضریب $\frac{x}{U_r}$ در رابطه (3)، ضریب نفوذ را می‌توان از رابطه (6) به دست آورد.

$$K_1 = \left(\frac{D_{eff} \pi^2}{r^2} \right) \quad (6)$$

تعیین انرژی مصرفی ویژه

انرژی مصرفی ویژه مورد نیاز برای خارج کردن یک کیلوگرم آب از محصولات بادمجان با استفاده از خشک‌کن پیوسته به عنوان انرژی مصرفی ویژه (SEC_{band}) بیان می‌گردد و برای محصول بادمجان در خشک‌کن پیوسته از رابطه زیر به دست می‌آید (Kaveh and Amiri Chayjin., 2017):

$$SEC_{band} = Qt \frac{(T_{in} - T_{am})}{m_v V_h} (C_{pa} + C_{pv} h_a) \quad (7)$$



شکل 2- ساختار ANN با دو لایه پنهان

شبکه‌های مورد نظر به کار گرفته شد. در طی فرآیند آموزش، شبکه‌های عصبی مصنوعی به کمک داده‌های آموزشی، ارتباط بین نرون‌ها را در هر چرخه آموزش فرا می‌گیرند تا این مقادیر پیش‌بینی‌شده به مقادیر خروجی مطلوب نزدیک شوند و مقادیر خطای حاصل از مقادیر خطای مشخص‌شده کمتر گردد. پارامترهای ترکیبی مانند تعداد لایه‌های پنهان، تعداد نرون‌ها، تعداد چرخه آموزش، در طی فرآیند آموزش شبکه و به روش آزمون و خطا تعیین می‌شوند. از نرم‌افزار Neural Network Toolbox MATLAB (ver4.01) نیز برای انجام تحلیل‌ها برای

یک شبکه پرسپترون دو و سه لایه با توابع فعال‌سازی مختلف برای تعیین ساختار مطلوب مورد آزمایش قرار گرفت. تعداد نرون‌های لایه میانی (یک لایه و دو لایه) از سه تا 20 تغییر داده شدند. به منظور پردازش داده‌های مورد آزمایش از دو شبکه پس انتشار پیش‌خور (Feed Forward Back Propagation (FFBP)) و پس انتشار پیش‌رو (Cascad Forward Back Propagation (CFBP)) استفاده شد. همچنین از الگوریتم‌های آموزش لونیگ-مارکوارت (Levenberg-Marquardt (LM)) و تنظیم بیزی (Bayesian Regulation (BR)) برای بهنگام‌سازی وزن‌های

سریع و آسان برای درک و پیاده‌سازی، (2) یک روش بهینه‌سازی کارآمد برای نگهداری و (3) نیاز به حافظه کمی برای محاسبات و داشتن چند پارامتر برای تنظیم در مقایسه با الگوریتم ژنتیک PSO شامل گروهی از ذرات که در جستجو برای بهترین موقعیت، شامل بهترین شرایط شخصی (P_{best}) و جمعی (g_{best})، بر این اساس بهترین راه حل برای حل مسایل می‌باشد (Karakuzu, et al., 2016). به عبارت دیگر، در هر بار تکرار، هر ذره در جهت بهترین و موقعیت خودش حرکت می‌کند. معادلات جبری است که موقعیت و سرعت یک پرنده در طول روند در حال اجرا را توصیف می‌کند (Hasanipanah et al., 2016):

$$V_{new} = w * V + C_1 r_1 (P_{best} - X) + C_2 r_2 (g_{best} - X) \quad (9)$$

$$X_{new} = X + V_{new} \quad (10)$$

که در آن V_{new} و X_{new} سرعت بعدی و موقعیت ذره می‌باشند. w ضریب وزن سرعت فعلی می‌باشد. r_1 و r_2 اعداد تصادفی در بازه [0 و 1] می‌باشد. C_1 و C_2 به ترتیب ضریب وزنی از بهترین موقعیت فردی و بهترین موقعیت جمعی که تاکنون داشته‌اند.

الگوریتم گرگ خاکستری (GWO)

در این بخش، مدل‌های ریاضی سلسله مراتب اجتماعی، ردیابی، محاصره و حمله به طعمه ارائه شده است. سلسله مراتب رهبران و ساز و شکار گرگ خاکستری در شکل 3 نشان داده شده است. به منظور مدل‌سازی ریاضی سلسله مراتب اجتماعی از گرگ‌ها در هنگام طراحی GWO، بهترین راه حل به عنوان آلفا (α)، بهترین راه حل دوم و سوم به ترتیب بتا (β) و دلتا (δ) نام دارند. بقیه راه حل‌ها امگا (ω) فرض می‌شود. در الگوریتم GWO شکار (بهینه‌سازی) توسط α ، β و δ هدایت می‌شود. و گرگ‌های ω این سه گرگ را دنبال می‌کنند.

طراحی و ارزیابی شبکه‌های عصبی مصنوعی مختلف و پیش‌بینی پارامترهای خشک کردن استفاده شد.

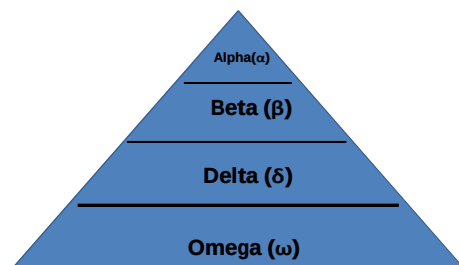
شبکه‌های عصبی مصنوعی از چندین لایه تشکیل می‌شوند. لایه‌های ابتدایی و انتهایی به ترتیب لایه ورودی و لایه خروجی نام دارند. همچنین بین این دو لایه ممکن است یک یا دو لایه پنهان وجود داشته باشند. خروجی شبکه X_j به صورت زیر مدل می‌شود (Mahjoorian et al., 2017):

$$X_j = \sum_{i=1}^N W_{ij} \times Y_i + b_j \quad (8)$$

برای شبکه‌های پستشار، N تعداد نرون‌های لایه خروجی، W_{ij} وزن بین لایه i و j ، Y_i خروجی نرون i ام و b_j مقدار بایاس نرون لایه j ام است. طی فرآیند آموزش این وزن‌ها و مقادیر ثابتی که با آن‌ها جمع می‌شود اصطلاحاً بایاس نامیده می‌شوند، به طور پی در پی تغییر می‌کند تا خطا به کمترین مقدار خود برسد. پس از محاسبه هر X_j ، شبکه تحت یک تابع فعال‌سازی شروع به اصلاح آن می‌کند. برای بهینه‌سازی ساختار شبکه از سه تابع فعال‌سازی تابع سیگموئید لگاریتمی (LOG)، تابع خطی (PUR) و تانژانت هایپربولیک سیگموئید (TAN) استفاده شد.

الگوریتم بهینه‌سازی توده ذرات (PSO)

PSO یک روش بهینه‌سازی اکتشافی استاندارد با الهام از رفتار اجتماعی تعاملی برخی از گونه‌های حیوانات به عنوان مثال، پرندگان و ماهی که به یک منبع غذایی هجوم می‌آورند (Chakraborty et al., 2016). در PSO، پرنده به عنوان یک راه حل ممکن در فضا به جستجو می‌پردازد. بهینه‌سازی با قرار دادن یک تابع تناسب شناخته شده برای تمام پرندگان به عنوان ذره انجام شد. Hasanipanah و همکاران (2016) بهینه‌سازی ازدحام ذرات (PSO) به عنوان یک الگوریتم مبتنی بر جمعیت معرفی کرد که رفتارشناختی و اجتماعی از ازدحام در PSO است. مزایای استفاده از PSO: (1) یک الگوریتم



شکل 3- هرم سلسله مراتب گرگ خاکستری

که در آن C_4 C_5 C_6 بردارهای تصادفی می‌باشند. X موقعیت راحل را در هر لحظه می‌دهد. X_α موقعیت گرگ آلفا، X_β موقعیت گرگ بتا و X_δ موقعیت گرگ دلتا را نشان می‌دهد. A_1 A_2 A_3 بردارهای تصادفی هستند. t تعداد تکرارها می‌باشد. اصولاً عدم پیش‌پردازش داده‌ها باعث کاهش سرعت و دقت شبکه می‌شود. برای دوری از چنین شرایطی و همچنین به منظور یکسان‌سازی ارزش داده‌ها برای ANN، PSO و GWO، عمل نرمال‌سازی انجام می‌شود که این کار مانع از کوچک شدن بیش از حد وزن‌ها می‌گردد. برای نرمال‌سازی داده‌های مورد استفاده از رابطه (18) بهره گرفته شد (Armaghani et al., 2017).

$$X_n = \frac{X_i - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (18)$$

که در آن X_n مقدار نرمال شده پارامتر، X_i مقدار واقعی هر پارامتر، $X_{\max}$ بیشینه مقدار پارامتر مورد نظر و $X_{\min}$ کمینه مقدار پارامتر مورد نظر می‌باشند.

جدول 1، مختصری از پارامترهای ورودی (مرز و سطوح) ANN، PSO و GWO را نشان می‌دهد. به‌منظور بررسی و ارزیابی شبکه‌های مختلف، پایگاه داده‌ای به دو دسته آموزش و ارزیابی تقسیم شد. حدود 25% کل الگوها به‌طور تصادفی برای ارزیابی شبکه‌های آموزش دیده و بقیه داده‌ها (75%) به‌منظور آموزش شبکه انتخاب شدند. برای پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه تعداد 27 داده استفاده شد که حدود 25 درصد داده‌ها (8 داده) به‌طور تصادفی برای ارزیابی شبکه آموزش دیده مورد استفاده قرار گرفت.

شاخص‌های کمی بسیاری جهت ارزیابی کارکرد ANN، PSO و GWO مورد استفاده قرار می‌گیرند. معیارهای از جمله ضریب تبیین (همبستگی) (R^2)، شاخص میانگین مربعات خطا (MSE)، میانگین خطای مطلق (MAE) برای تعیین کیفیت عملکرد مدل‌ها در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفته شده‌اند.

با توجه به اطلاعات فوق، گرگ خاکستری در طی محاصره طعمه را شکار می‌کند برای مدل سازی ریاضی رفتار محاصره، معادلات زیر ارائه شده است (Amirsadri et al., 2017).

$$\vec{D} = \left| \vec{C} \cdot \vec{X}_{prey}(t) - \vec{X}_{GWolf} t \right| \quad (11)$$

$$\vec{X}_{GWolf}(t+1) = \vec{X}_{prey}(t) - \vec{A} \cdot \vec{D} \quad (12)$$

که در آن t تعداد تکرار را نشان می‌دهد. $\vec{A}$ و $\vec{C}$ ضریب بردار هستند. $\vec{X}_{prey}$ بردار موقعیت از طعمه است. بردارهای $\vec{A}$ و $\vec{C}$ به‌صورت زیر محاسبه می‌شوند:

$$\vec{A} = 2\vec{a} \cdot \vec{r}_1 - \vec{a} \quad (13)$$

$$\vec{C} = 2 \cdot r^2 \quad (14)$$

$\vec{X}_{GWolf}$ موقعیت یک گرگ خاکستری را نشان می‌دهد. که در آن اجزاء $\vec{a}$ در طول دوره تکرار از 2 به 0 کاهش می‌یابد. و $\vec{r}_1$ ، $\vec{r}_2$ بردارهای تصادفی بین صفر و 1 هستند. بنابراین، یک گرگ خاکستری می‌تواند موقعیت خود را در داخل فضای اطراف طعمه در هر مکان تصادفی با استفاده از معادلات (13) و (14) به‌روز رسانی کند.

همانطور که در بالا ذکر شد، گرگ‌های آلفا، بتا و دلتا مسئول روند شکار می‌باشند و بقیه گرگ‌ها آنها را دنبال می‌کنند. به زبان ریاضی، گرگ‌ها موقعیت خود را با استفاده از معادلات زیر به‌روزرسانی می‌کنند (Medjahed et al., 2016).

$$\vec{D}_\alpha = \left| \vec{C}_4 \cdot \vec{X}_\alpha - \vec{X} \right| \quad (15)$$

$$\vec{D}_\beta = \left| \vec{C}_5 \cdot \vec{X}_\beta - \vec{X} \right|$$

$$\vec{D}_\delta = \left| \vec{C}_6 \cdot \vec{X}_\delta - \vec{X} \right|$$

$$\vec{X}_1 = \vec{X}_\alpha - \vec{A}_1 \cdot \vec{D}_\alpha \quad (16)$$

$$\vec{X}_2 = \vec{X}_\beta - \vec{A}_2 \cdot \vec{D}_\beta$$

$$\vec{X}_3 = \vec{X}_\delta - \vec{A}_3 \cdot \vec{D}_\delta$$

$$\vec{X}(t+1) = \frac{\vec{X}_1 + \vec{X}_2 + \vec{X}_3}{3} \quad (17)$$

جدول 1- خلاصه ای از پارامترهای ورودی و خروجی برای ANN، PSO و GWO

پارامتر	نماد	واحد	رده	حداقل	حداکثر
دمای هوای ورودی	T_c	°C	ورودی	45	75
سرعت هوای ورودی	V	m/s	ورودی	1	2
سرعت خطی تسمه	U_b	mm/s	ورودی	2/5	10/5
ضریب پخش رطوبت	D_{eff}	m ² /s	خروجی	1/13×10 ⁻¹⁰	3/40×10 ⁻⁹
انرژی مصرفی ویژه	SEC_{band}	MJ/kg	خروجی	130/62	474/12

75°C، 36% سریعتر از دمای 45°C درجه خشک شد. با این حال میزان کاهش رطوبت، به علت بیشتر شدن انرژی جنبشی مولکول‌ها و افزایش انتقال جرم، افزایش یافت. نتایج مشابهی در خشک کردن سیب (Horuz et al., 2018)، شلغم (Kaveh and Amiri Chayjan, 2017)، هویج (Aghbashlo et al., 2011)، سیب‌زمینی (Aghbashlo et al., 2009a) و انار (Doymaz, 2012) گزارش شده است.

ضریب پخش رطوبت موثر

مقادیر ضریب پخش رطوبت موثر (D_{eff}) برای بادمجان توسط معادله (6) محاسبه شد و در جدول (2) نشان داده شده است. معمولاً مقادیر ضریب پخش رطوبت موثر در آزمایش‌ها برای محصولات کشاورزی و مواد غذایی در محدوده بین 10^{-8} تا 10^{-12} m²/s می‌باشد (Kara and Doymaz, 2015). با توجه به جدول (2) بیشترین و کمترین مقدار ضریب پخش رطوبت موثر برای بادمجان به ترتیب $1/14 \times 10^{-8}$ و $3/40 \times 10^{-9}$ m²/s به دست آمد. بیشترین مقدار ضریب پخش در سرعت تسمه 10/5 mm/s و دمای هوای ورودی 75°C و سرعت هوای ورودی 2 m/s محاسبه شد. در روش خشک کردن پیوسته با افزایش دما و سرعت هوای ورودی و افزایش سرعت تسمه در فرآیند خشک شدن بادمجان، میزان ضریب پخش رطوبت موثر افزایش یافت. کمترین مقادیر ضریب پخش رطوبت موثر در سرعت‌های مختلف هوا در پایین‌ترین دما و کمترین سرعت تسمه بدست آمد و بیشترین ضریب پخش رطوبت موثر مربوط به بالاترین دمای هوای ورودی و بیشترین سرعت حرکت تسمه می‌باشد. ضریب پخش رطوبت موثر به دما و ترکیب مواد بستگی دارد. با افزایش دما در داخل خشک کن پیوسته، میزان ضریب پخش رطوبت موثر افزایش نمود. دلیل وقوع این مسئله تاثیر بارز دمای هوای ورودی در ایجاد جنبش مولکولی، افزایش بخار آب داخل محصولات، افزایش مکش سطحی و کاهش رطوبت تعادلی سطح محصولات در افزایش ضریب پخش رطوبت موثر می‌باشد (Dehghannya et al., 2018). نتایج مشابهی در مورد دیگر محصولات کشاورزی هم مشاهده شد که برای شلغم در دماهای ورودی (45، 60 و 75°C)، سرعت هوای ورودی (1، 1/5 و 2 m/s) و سرعت خطی تسمه (2/5، 6/5 و 10/5 mm/s) ضریب پخش رطوبت موثر بین $8/37 \times 10^{-10}$ تا $4/82 \times 10^{-9}$ m²/s بدست آمد (Kaveh and Amiri Chayjan, 2017). برای بنه در محدوده در دماهای ورودی (45، 60 و 75°C)، سرعت هوای ورودی (1، 1/5 و 2 m/s) و سرعت خطی تسمه (2/5، 6/5 و 10/5 mm/s)، ضریب پخش رطوبت موثر بین $6/48 \times 10^{-11}$ تا $2/34 \times 10^{-10}$ m²/s بدست آمد (Amiri Chayjan et al., 2017). همچنین برای سیب‌زمینی در دماهای ورودی (50، 60 و 70°C)، سرعت هوای ورودی (0/5، 1 و 1/5 m/s) و سرعت خطی تسمه

شاخص میانگین مربعات خطا، دقت مدل را بر اساس تفاضل بین مقادیر واقعی و مقادیر پیش‌بینی شده، مورد ارزیابی قرار می‌دهد. با توجه به نتایج حاصله، هرچه قدر MSE و MAE به صفر نزدیک‌تر و R^2 به صد نزدیک‌تر باشند، بیانگر اختلاف کمتری بین آن‌ها خواهد بود (Gordan et al., 2016):

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_i - X_p)^2} \quad (19)$$

$$R^2 = \frac{\left[\sum_{i=1}^N (X_i - X_{mean})^2 \right] - \left[\sum_{i=1}^N (X_i - X_p) \right]^2}{\left[\sum_{i=1}^N (X_i - X_{mean})^2 \right]} \quad (20)$$

$$MAE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_i - X_p) \quad (21)$$

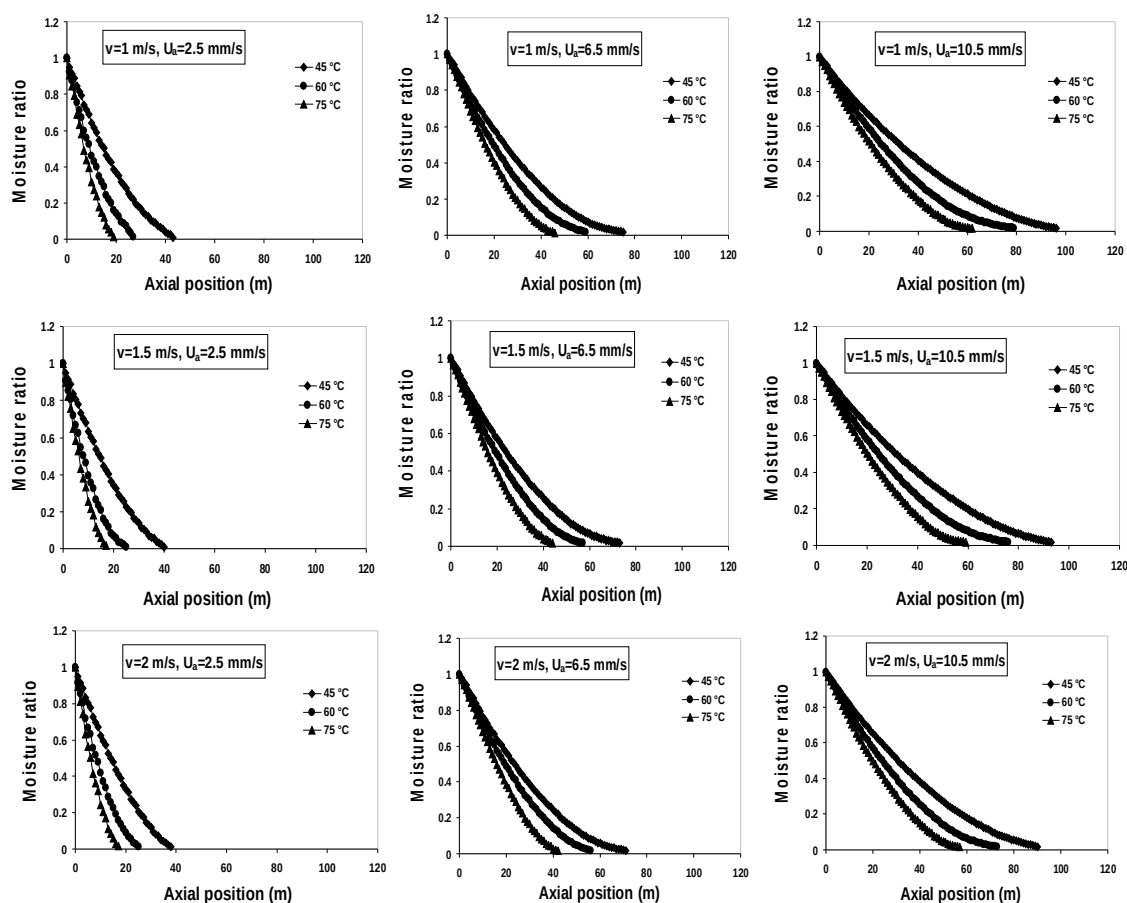
در این روابط X_i و X_p به ترتیب مقدار واقعی و مقدار پیش‌بینی‌شده از مقادیر D_{eff} و SEC_{band} هستند. میانگین مقادیر پیش‌بینی و N تعداد کل داده‌ها می‌باشد.

نتایج و بحث

سینتیک خشک‌شدن

محتوای رطوبتی بادمجان حدود (1025 %d.b.) به دست آمد. نمونه‌های بادمجان تا رطوبت (10 %d.b.) خشک شدند. شکل 4 نمودار مربوط به نسبت رطوبت و فاصله طی شده (m) می‌باشد. با توجه به شکل، نتایج نشان داد که با افزایش سرعت حرکت تسمه، سرعت خروج رطوبت از بادمجان کندتر شده و زمان خشک شدن افزایش یافت. این روند در سرعت‌های بالاتر با شدت بیشتری رخ داد. بر این اساس کمترین فاصله طی شده برای بادمجان در سرعت تسمه 2/5 mm/s اتفاق افتاد و بیشترین فاصله طی شده در سرعت تسمه 10/5 mm/s به دست آمد. برای مثال در دمای 75°C و سرعت هوای ورودی 2 متر بر ثانیه، سرعت تسمه 2/5 تقریباً 70% سریعتر از سرعت تسمه 10/5 خشک شد. یکی از دلایلی که منجر به این اتفاق شد این بود که با کاهش سرعت حرکت تسمه، محصول مدت زمان بیشتری را در دمای درون محفظه نگه داشته می‌شود و باعث کاهش بیشتر میزان رطوبت نمونه‌ها می‌شود. به عبارت دیگر سرعت حرکت تسمه، باعث انتقال بیشتر جرم و حرارت و کاهش رطوبت شدیدتر می‌شود. همچنین با افزایش دمای ورودی، فاصله طی شده بادمجان کاهش یافت به گونه‌ای که طولانی‌ترین فاصله طی شده فرآیند مربوط به خشک کردن با دمای 45°C و کوتاه‌ترین فاصله طی شده فرآیند مربوط به دمای 75°C بود. برای مثال در دمای هوای 2 متر بر ثانیه و سرعت تسمه 10/5 میلی‌متر بر ثانیه فاصله طی شده در دمای

(2/38، 2/78 و 3/33) ضریب پخش رطوبت موثر بین
 $3/21 \times 10^{-7}$ تا $8/98 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$ حاصل شد (Aghbashlo et al., 2011).



شکل 4- اثر دمای هوای ورودی بر نسبت رطوبت بادمجان در سطوح مختلف سرعت هوای ورودی و سرعت‌های خطی تسمه در طول فرآیند خشک کردن بادمجان

جدول 2- اثر سرعت هوای ورودی، دمای هوای ورودی و سرعت خط تسمه بر ضریب پخش رطوبت (m^2/s) در خشک کردن بادمجان

10/5-75	6/5-75	2/5-75	10/5-60	6/5-60	2/5-60	10/5-45	6/5-45	2/5-45	سرعت هوا (m/s)
$1/05 \times 10^{-8}$	$8/69 \times 10^{-9}$	$6/81 \times 10^{-9}$	$8/27 \times 10^{-9}$	$6/65 \times 10^{-9}$	$5/19 \times 10^{-9}$	$6/32 \times 10^{-9}$	$5/35 \times 10^{-9}$	$3/40 \times 10^{-9}$	1
$1/10 \times 10^{-8}$	$8/75 \times 10^{-9}$	$8/43 \times 10^{-9}$	$8/59 \times 10^{-9}$	$6/97 \times 10^{-9}$	$6/16 \times 10^{-9}$	$6/48 \times 10^{-9}$	$5/51 \times 10^{-9}$	$3/73 \times 10^{-9}$	1/5
$1/14 \times 10^{-8}$	$9/08 \times 10^{-9}$	$8/59 \times 10^{-9}$	$9/08 \times 10^{-9}$	$7/02 \times 10^{-9}$	$6/48 \times 10^{-9}$	$6/65 \times 10^{-9}$	$6/67 \times 10^{-9}$	$3/89 \times 10^{-9}$	2

2/5mm/s و دمای 75°C و سرعت هوای ورودی 2 m/s به دست آمد. انرژی مصرفی ویژه مورد نیاز با افزایش دمای هوای ورودی، کاهش پیدا کرد، در صورتی که با افزایش سرعت تسمه، میزان انرژی مصرفی ویژه افزایش پیدا نمود. افزایش دمای هوا، آنتالپی هوای ورودی را افزایش داده، افزایش آنتالپی میزان انتقال جرم و حرارت را افزایش میدهد و زمان خشک کردن کاهش پیدا می کند و در نتیجه

انرژی مصرفی ویژه

مقادیر مصرف انرژی برای بادمجان در دما و سرعت‌های هوای ورودی و سرعت تسمه خشک کن پیوسته در جدول (3) نشان داده شده است. انرژی مصرفی ویژه برای محصول بادمجان در خشک کن پیوسته از رابطه (7) محاسبه شد. بیشترین مقدار انرژی مصرفی ویژه برای بادمجان به ترتیب 474/86 MJ/kg در سرعت تسمه

مصرف انرژی کاهش پیدا کرد. نتایج مشابه توسط محققین دیگر گزارش شد (Motevali and Tabatabaei, 2017; Khoshtaghaza et al., 2015). با افزایش سرعت هوا سطح محصول خنک شده، دمای آن کاهش یافته و زمان خشک شدن افزایش می‌یابد. در نتیجه انرژی ویژه مصرفی نیز افزایش پیدا می‌کند. افزایش سرعت تسمه در شرایط ثابت دما و سرعت هوا مدت زمان

کلی خشک کردن را افزایش می‌داد و با توجه به تأثیر مستقیم زمان در میزان انرژی ویژه مصرفی مقدار آن افزایش پیدا کرد. محققین دیگر در بررسی انرژی ویژه مصرفی به نتایج مشابه دست یافتند (Das and Arora, 2018; Khoshtaghaza et al., 2015; Aghbashlo et al., 2009b).

جدول 2- اثر سرعت هوا، دمای هوای ورودی و سرعت خطی تسمه بر انرژی مصرفی ویژه در خشک کردن بادمجان

سرعت هوا (m/s)	2/5-45	6/5-45	10/5-45	2/5-60	6/5-60	10/5-60	2/5-75	6/5-75	10/5-75
1	207/95	248/66	263/09	186/71	220/05	251/20	130/62	167/32	186/55
1/5	297/18	357/59	364/39	269/28	318/71	360/80	189/70	243/73	259/86
2	446/21	446/21	474/86	344/47	416/55	463/94	244/77	316/43	330/15

شبکه‌های عصبی مصنوعی برای پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه

شبکه‌های عصبی پس‌انتشار پیشرو و پیش‌خور برای پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی با استفاده از 27 الگو آموزش داده شدند. الگوریتم‌ها با استفاده از نگاشت غیرخطی بین پارامترهای ورودی (سرعت تسمه، سرعت هوای ورودی، دمای هوای ورودی) و پارامترهای خروجی (ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی) آموزش داده شدند. تعداد نرون‌های پنهان با اضافه شدن در لایه‌های پنهان به جای x و y با استفاده از معماری $3-y-1$ و $3-x-1$ به ترتیب برای شبکه با یک و دو لایه پنهان تغییر داده شدند.

جدول 4 یک لیست از بهترین شبکه‌های عصبی با توپولوژی، توابع آستانه و الگوریتم‌های مختلف کاربردی در پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه بادمجان در خشک‌کن پیوسته را نشان می‌دهد. همانطور که در جدول ذکر شده است،

کاربردی‌ترین توپولوژی و توابع آستانه و آموزش مناسب نشان داده شده است. با این حال می‌توان اظهار داشت که شبکه‌های عصبی یک ابزار قدرتمند برای مدل‌سازی خواص حرارتی خشک کردن بادمجان در شرایط مختلف می‌باشد. که دارای دقت بالا با هزینه و زمان کم می‌باشد.

در میان توپولوژی‌های مختلف ارائه شده در جدول 4، بهترین نتایج را برای پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت میوه بادمجان با توپولوژی 1-5-6-3 و تابع آستانه TAN-PUR-TAN متعلق به الگوریتم LM می‌باشد که در این ساختار MSE ، MAE و R^2 به ترتیب $1/13 \times 10^{-19}$ ، $2/36 \times 10^{-3}$ و $0/9618$ به دست آمد و بهترین نتایج برای انرژی مصرفی ویژه با توپولوژی 1-5-3، تابع آستانه TAN-TAN-TAN با الگوریتم LM، $MSE=0/0852$ ، $MAE=0/2144$ و $R^2=0/9773$ بود.

جدول 4- نتایج روش‌های مختلف ANN در برآورد ضریب پخش رطوبت و انرژی مصرفی ویژه

پارامتر	شبکه	الگوریتم	تابع آستانه	تعداد نرون در هر لایه	MSE	R^2	MAE	Epoch
D_{eff}	FFBP	LM	TAN-PUR-TAN	3-6-5-1	$1/13 \times 10^{-19}$	0/9618	$2/36 \times 10^{-3}$	129
SEC	FFBP	LM	TAN-TAN-TAN	3-5-5-1	0/08251	0/9773	0/2144	167

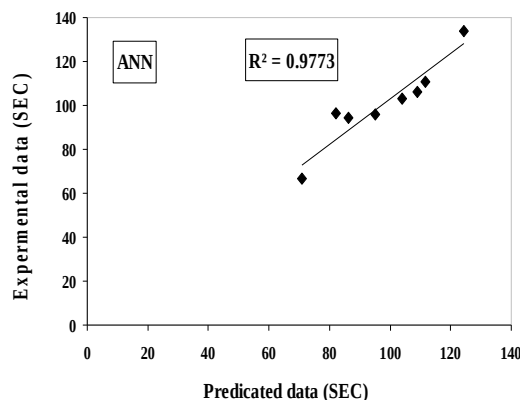
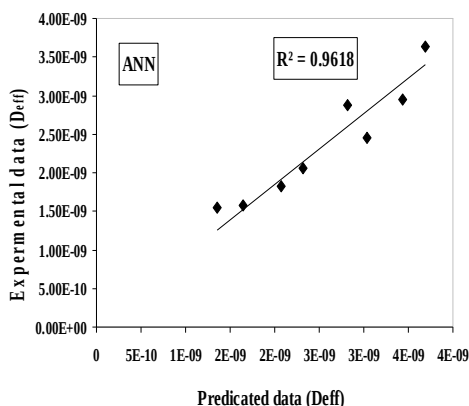
نیز با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی بیانگر این موضوع می‌باشند.

پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه با استفاده از مدل PSO

PSO یکی از شناخته شده‌ترین روش‌ها برای به دست آوردن یک معادله خطی بین یک یا چند پارامتر مستقل و یک پارامتر وابسته است (Hasanipanah et al., 2016). این روش به طور خیلی کمی

شکل 5 نمودار مقایسه مقادیر پیش‌بینی شده توسط شبکه‌های عصبی مصنوعی با مقادیر واقعی تجربی مورد نظر را برای ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی را برای خشک‌کن پیوسته بادمجان را نشان می‌دهد. که بر اساس نتایج حاصله، بیشترین مقدار ضریب تبیین برای پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر $0/9618$ و برای انرژی مصرفی ویژه $0/9773$ به دست آمد. پژوهش‌های قبلی در مورد خصوصیات خشک‌کردن محصولات دیگر مانند کدو (Tavakolipour et al., 2014) و آلبالو (Motavali et al., 2013)

بهترین این پارامترها را می‌توان با استفاده از روش آزمون و خطا تعیین کرد. وقتی که MSE حداقل و R^2 حداکثر است، بهترین مقادیر پارامترهای PSO باید به‌دست می‌آید.



شکل 5- پیش‌بینی مقادیر واقعی در مقابل مقادیر آزمایشی ضریب پخش رطوبت (D_{eff}) و انرژی مصرف ویژه (SEC) با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی

جدول 6- نتایج روش‌های مختلف PSO در برآورد ضریب پخش

رطوبت و انرژی مصرفی ویژه			
پارامتر	MSE	R^2	MAE
D_{eff}	$9/21 \times 10^{-20}$	0/9827	$3/44 \times 10^{-15}$
SEC	0/06810	0/9890	0/1869

شکل 6 بیشترین مقدار ضریب تبیین برای پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه را با استفاده از PSO نشان می‌دهد.

پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه با استفاده از GWO

جدول 7 خلاصه‌ای از بهترین مقادیر GWO شامل تعداد ذرات و حداکثر تعداد تکرار در پیش‌بینی پارامترهای خشک‌شدن بادمجان را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از الگوریتم GWO برای پیش‌بینی مجموعه داده‌ها در جدول 8 ارائه شده است. در این جدول کمترین مقدار MSE و بیشترین مقدار R^2 توسط الگوریتم GWO ارائه شده است. الگوریتم GWO ساختار ساده‌ای دارد. با این حال از آن می‌توان برای بسیاری از مشکلات ترکیبی استفاده کرد. شکل 7 نرخ همگرایی GWO برای ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی

برای پیش‌بینی برخی از خواص در زمینه‌های خشک‌کردن محصولات کشاورزی استفاده شده است. برنامه نویسی PSO (در محیط نرم‌افزار MATLAB اجرا شد)، چند پارامتر، تعداد ذرات و تکرار، وزن اینرسی، شتاب فردی: C_1 و شتاب اجتماعی: C_2 باید در نظر گرفته شود و

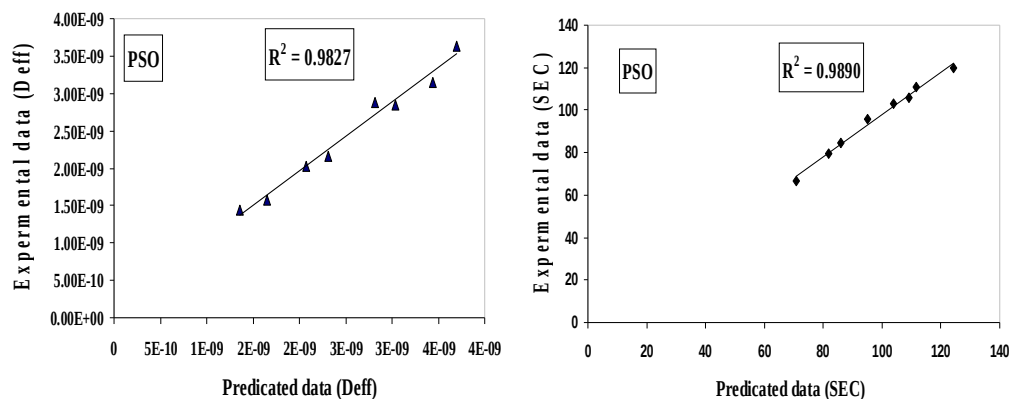
جدول 5 بهترین ارزش‌های PSO را برای پارامترهای مورد استفاده در مقاله حاضر خلاصه نشان می‌دهد. این پارامترها نشان دهنده تعداد ذرات، حداکثر تعداد تکرار، وزن اولیه اینرسی، ضریب یادگیری فردی و ضریب یادگیری اجتماعی است. این پارامترها با روش آزمون و خطا تعیین شده و مقادیر بهینه برای این مطالعه هستند.

جدول 5- مقادیر به‌دست آمده برای پارامترهای PSO

پارامتر	مقادیر
تعداد ذرات	300
تعداد تکرار	1000
ضریب یادگیری فردی (C_1)	0/8167
ضریب یادگیری اجتماعی (C_2)	0/8167
وزن اولیه اینرسی	0/3984

پیش‌بینی پارامترهای ضریب پخش رطوبت و انرژی مصرفی ویژه بادمجان به‌وسیله PSO انجام شد. با توجه به جدول (6) کمترین مقدار میانگین مربعات خطا (MSE) برای پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت و انرژی مصرفی ویژه، به‌ترتیب دارای ($9/21 \times 10^{-20}$) و (0/06810) به‌دست آمد. بیشترین مقدار ضریب تبیین برای ضریب پخش رطوبت برابر 0/9827 و برای انرژی مصرفی ویژه برابر 0/9890 محاسبه شد.

ویژه را نشان می‌دهد. با توجه به شکل 7 مقدار ضریب تبیین (R^2) برای ضریب نفوذ رطوبت برابر 0/9915 و برای انرژی مصرفی ویژه برابر 0/9986 محاسبه شد.



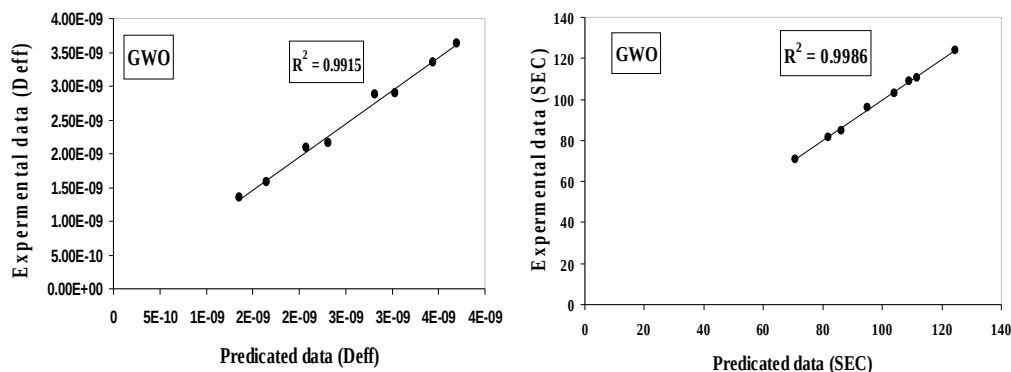
شکل 6- پیش‌بینی مقادیر واقعی در مقابل مقادیر آزمایشی ضریب پخش رطوبت (D_{eff}) و انرژی مصرف ویژه (SEC) با استفاده از PSO

جدول 7- مقادیر به‌دست آمده برای پارامترهای GWO

پارامتر	مقادیر
تعداد ذرات	300
تعداد تکرار	1000

جدول 8- نتایج روش های مختلف GWO در برآورد ضریب پخش رطوبت و انرژی مصرفی ویژه

پارامتر	MSE	R^2	MAE
D_{eff}	$9/21 \times 10^{-22}$	0/9915	$3/44 \times 10^{-16}$
SEC	0/00810	0/9986	0/0769



شکل 7- پیش‌بینی مقادیر واقعی در مقابل مقادیر آزمایشی ضریب پخش رطوبت (D_{eff}) و انرژی مصرف ویژه (SEC) با استفاده از GWO

کردن بادمجان، خشک کن پیوسته استفاده شد. به‌منظور اندازه‌گیری عملکرد از معادلات توسعه یافته، سه تابع آماری، به‌عنوان مثال، میانگین مربع خطا (MSE)، متوسط خطای مطلق (MAE) و ضریب تبیین (R^2) استفاده و محاسبه شد.

مقایسه شبکه‌های عصبی مصنوعی، PSO و GWO در

پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه

در مقاله حاضر، سه مدل، ANN، PSO و GWO، برای

پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه در خشک

رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه با مقادیر خروجی مورد نظر برای تجزیه و تحلیل ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه خشک کردن پیوسته میوه بادمجان را با استفاده از مدل‌های بهینه سازی GWO، PSO و ANN نشان می‌دهند. نقاط داده در اطراف یک خط مستقیم 45 درجه، نشان از توانایی هر سه الگوریتم GWO، PSO و ANN در پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت و انرژی مصرفی ویژه از خشک کردن پیوسته میوه بادمجان می باشد. کنترل فرآیند و شبیه سازی آن در زمینه فن آوری خشک کردن است همیشه یک کار برای به چالش کشیدن مهندسان با توجه به روابط مناسب متغیر با زمان و غیر خطی از خشک کردن است. بنابراین، رویکرد الگوریتم‌های جدید یک گزینه جذاب برای روش‌های کلاسیک، که می‌تواند یک قدرت برآورد بالاتر داشته باشند و کار با آنها را یک طیف وسیع‌تری گسترش داد.

جدول 9 مقادیر مدل‌های ANN، PSO و GWO را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج جدول 9، دقت مدل GWO در این تحقیق بیشتر از ANN و PSO است. پراکندگی داده‌های اندازه‌گیری شده واقعی و داده‌های پیش‌بینی برای شبکه عصبی مصنوعی PSO و GWO، به ترتیب در شکل‌های 5، 6 و 7 نشان داده شده است. از شکل 5، 6 و 7 مشخص است که پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه توسط GWO در مقایسه با شبکه‌های عصبی مصنوعی PSO به خط 45° نزدیکتر است. نتیجه نهایی یک الگوریتم بهینه‌ساز PSO به پارامترهای مهم C_1 ، C_2 و w بستگی دارد. اما الگوریتم GWO چنین پارامترهایی ندارد و بنابراین می‌تواند حالت مطلوب‌تری در پیش‌بینی داده‌های کارآمد تر و قوی‌تر در مقایسه با PSO و الگوریتم‌های دیگری که دارای این پارامترها هستند، داشته باشد.

شکل‌های 5، 6 و 7 مقایسه مقادیر پیش‌بینی ضریب پخش

جدول 9- مقایسه پیش‌بینی پارامترهای خشک کردن بادمجان با استفاده از ANN، PSO و GWO

SEC			D_{eff}			11
GWO	PSO	ANN	GWO	PSO	ANN	
0/0081	0/0681	0/0852	$9/21 \times 10^{-22}$	$1/83 \times 10^{-20}$	$6/88 \times 10^{-19}$	MSE
0/0769	0/1869	0/2144	$3/44 \times 10^{-16}$	$1/58 \times 10^{-15}$	$2/36 \times 10^{-13}$	MAE
0/9986	0/9890	0/9773	0/9915	0/9827	0/9618	R^2

دمای هوای ورودی (45، 60 و 75°C) سه سرعت هوای ورودی (1، 1/5 و 2 m/s) بررسی شد. نتایج نشان داد با کاهش سرعت تسمه و افزایش دمای هوای ورودی، زمان خشک شدن بادمجان کاهش می‌یابد. کمترین زمان خشک شدن مربوط به سرعت تسمه 2/5 mm/s، دمای 70°C و سرعت هوای ورودی 2 m/s بود. ضریب پخش رطوبت موثر در خشک کن پیوسته برای بادمجان $3/40 \times 10^{-9}$ تا $1/14 \times 10^{-8}$ m²/s به دست آمد. کمترین مقدار انرژی مصرفی 474/86 MJ/kg حاصل شد. برای پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه، از سه الگوریتم ANN، PSO و GWO استفاده شد. پیش‌بینی‌های عملکرد ANN، PSO و GWO از نظر چندین توابع آماری، یعنی R^2 ، MSE و MAE بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمده، بالاترین ضریب تعیین برای مدل GWO به دست آمد، در حالی که مقدار R^2 مدل‌های PSO بیشتر از ANN بود. از سوی دیگر، با کمترین مقدار خطای میانگین MSE نیز برای مدل GWO به دست آمد. به عنوان یک نتیجه‌گیری، نتایج نشان می‌دهد که توانایی GWO در مقایسه با مدل PSO و مدل ANN در پیش‌بینی ضریب پخش رطوبت و انرژی مصرفی ویژه بیشتر می‌باشد.

با توجه به معادله ریاضی الگوریتم GWO، نیمی از تکرار اختصاص داده شده به اکتشاف در فضای جستجو می‌باشد. این ترویج اکتشاف از فضای جستجو است که منجر به پیدا کردن مناطق جستجو متنوع در طول بهینه‌سازی می‌شود. این مکانیزم برای حل رکود بهینه محلی حتی زمانی که الگوریتم GWO در مرحله بهره برداری است مفید است. به این دلیل برای دقت‌های بالاتر از راه حل‌های ارائه شده توسط الگوریتم GWO است که این الگوریتم با پارامترهای مجهز به آرامی تعادل اکتشاف و بهره‌برداری را انجام می‌دهد. الگوریتم GWO همیشه هدایت عوامل جستجو برای بهره‌برداری از مناطق امید بخش‌ترین فضای جستجو وجود دارد. این مکانیسم GWO به ارائه اکتشاف بسیار خوب، بهره‌برداری، اجتناب بهینه محلی و همگرایی سریع به طور همزمان می‌انجامد (Song et al., 2015)

نتیجه‌گیری

رفتار خشک شدن بادمجان به صورت لایه نازک در خشک‌کن پیوسته در سه توان سرعت تسمه (2/5، 6/5 و 10/5 mm/s)، سه

منابع

- Aghbashlo, M., Kianmehr, M.H., Arabhosseini, A., & Nazghelichi T., 2011, Modelling the carrot thin-layer drying in a semi-industrial continuous band Dryer. *Czech Journal of Food Science*, 29 (5), 528–538.
- Aghbashlo, M., Kianmehr, M.H., & Arabhosseini, A., 2009a, Modeling of thin-layer drying of potato slices in length of continuous band dryer. *Energy Conversion and Management*, 50, 1348–1355.
- Aghbashlo, M., Kianmehr, M.H., Arabhosseini, A., 2009b, Performance analysis of drying of carrot slices in a semi-industrial continuous band dryer. *Journal of Food Engineering*, 91, 99–108.
- Amiri Chayjan R., Kaveh M., & Khayati S., 2017, Modeling some thermal and physical characteristics of terebinth fruit under semi industrial continuous drying. *Journal of Food Measurement & Characterization*, 11, 12–23.
- Amiri Chayjan, R., & Kaveh M., 2016, Drying characteristics of eggplant (*Solanum melongena*L.) slices under microwave-convective drying. *Research in Agricultural Engineering*, 62(4), 170–178.
- Amiri Chayjan, R., Kaveh, M., & Khayati, S., 2014, Modeling some drying characteristics of sour cherry (*Prunus cerasus*L.) under infrared radiation using mathematical models and artificial neural networks. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 16(1), 265-279.
- Amirsadri, S., Mousavirad, S.J., & Ebrahimpour-Komleh, H., 2017, A Levy flight-based grey wolf optimizer combined with backpropagation algorithm for neural network training. *Neural Computing & Applications*, DOI 10.1007/s00521-017-2952-5 (In Press).
- Armaghani, D.J., Shoib., R.S.N.S.B.R., Faizi, K., & Rashid, A.S.A., 2017, Developing a hybrid PSO–ANN model for estimating the ultimate bearing capacity of rock-socketed piles. *Neural Computing & Applications*, 28(2), 391-405.
- Beigi, M., 2017, Mass transfer parameters of celeriac during vacuum drying. *Heat & Mass Transfer*, 53(4), 1327–1334.
- Chakraborty, S., Sarma, M., Bora, J., Faisal, S., & Hazarika, M.K., 2016, Generalization of drying kinetics during thin layer drying of paddy. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 18(4), 177-189.
- Darici, S., & Sen, S., 2015, Experimental investigation of convective drying kinetics of kiwi under different conditions. *Heat & Mass Transfer*, 51(8), 1167–1176.
- Das, I., & Arora, A., 2018, Alternate microwave and convective hot air application for rapid mushroom drying. *Journal of Food Engineering*, 223, 208-219.
- Dehghannia, J., Hosseini, S., & Heshmati M.K., 2018, Multi-stage continuous and intermittent microwave drying of quince fruit coupled with osmotic dehydration and low temperature hot air drying. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45, 132-151.
- Doymaz, I., 2012, Prediction of drying characteristics of pomegranate arils. *Food Analytical Methods*, 5, 841–848.
- F.A.O. Statistics. 2010 www.FAO.org.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Omid, M., & Kalbasi-Ashtari, A., 2013, Prediction of the physicochemical properties of spray-dried black mulberry (*Morus nigra*) juice using artificial neural networks. *Food & Bioprocess Technology*, 6, 585–590.
- Ghaderi, A., Abbasi, S., Motevali, A., & Minaei, S., 2012, Comparison of mathematical model and artificial neural network for predication of drying kinetics of mushroom in microwave- vacuum dryer. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 18 (2), 283–293.
- Ghasemi, E., 2016, Particle swarm optimization approach for forecasting backbreak induced by bench blasting. *Neural Computing & Applications*, 28(7), 1855- 1862.
- Gordan, B., Armaghani, D.J., Hajihassani M., & Monjezi, M., 2016, Prediction of seismic slope stability through combination of particle swarm optimization and neural network. *Engineering with Computers*, 32(1), 85-97.
- Hajihassani, M., Jahed Armaghani, D., Sohaei, H., Tonnizam Mohamad, E., & Marto, A., 2014, Prediction of airblast-overpressure induced by blasting using a hybrid artificial neural network and particle swarm optimization. *Applied Acoustics*, 80, 57–67.
- Hasanipanah, M., Amnieh, S.B., Arab, H., & Zamzam, M.S., 2016, Feasibility of PSO–ANFIS model to estimate rock fragmentation produced by mine blasting. *Neural Computing & Application*. DOI 10.1007/s00521-016-2746-1(In Press).
- Horuz, E., Bozkurt, H., Karataş, H., & Maskan, M., 2018, Simultaneous application of microwave energy and hot air to whole drying process of apple slices: drying kinetics, modeling, temperature profile and energy aspect. *Heat and Mass Transfer*, 54(2), 425-436.
- Junqueira, J.R.D.J., Correa, J.L.G., & Ernesto, D.B., 2017, Microwave, convective, and intermittent microwave–convective drying of pulsed vacuum osmodehydrated pumpkin slices. *Journal of Food Processing & Preservation*. DOI: 10.1111/jfpp.13250. (In Press)
- Kamboj, V.K., 2016, A novel hybrid PSO–GWO approach for unit commitment Problem. *Neural Computing & Applications*, 27(6), 1643–1655.
- Karakuzu, C., Karakaya, F., & Cavuslu, M.A, 2016, FPGA implementation of neuro-fuzzy system with improved PSO learning. *Neural Networks*, 79, 128–140.
- Kara, C., & Doymaz, I., 2015, Effective moisture diffusivity determination and mathematical modelling of drying

- curves of apple pomace. *Heat and Mass Transfer*, 51(7), 983-989.
- Kaveh, M., & Amiri Chayjan, R., 2017, Modeling thin-layer drying of turnip slices under semi-industrial continuous band dryer. *Journal of Food Processing & Preservation*, 41(2), e12778.
- Kaveh, M., & Amiri Chayjan, R., 2015, Mathematical and neural network modelling of terebinth fruit under fluidized bed drying. *Research in Agricultural Engineering*, 61(2), 55-65
- Kennedy, J. & Eberhart, R., 1995, Particle swarm optimization, IEEE international conference on neural networks, Perth, Australia, 1942-1948.
- Khoshtaghaza, M.H., Darvishi, H., & Minaei, S., 2015, Effects of microwave- fluidized bed drying on quality, energy consumption and drying kinetics of soybean kernels. *Journal of Food Science & Technology*, 52(8), 4749-4760
- Mahjoorian, A., Mokhtarian, M., Fayyaz, N., Rahmati, F., Sayyadi, S., & Ariaii, P., 2016, Modeling of drying kiwi slices and its sensory evaluation. *Food Science & Nutrition*. 5(3), 466-473.
- Motevali, A., Tabatabaei S.R., 2017, A comparison between pollutants and greenhouse gas emissions from operation of different dryers based on energy consumption of power plants. *Journal of Cleaner Production*. 154, 445-461.
- Medjahed, S.A., Saadi, T. A., Benyettou, A., & Ouali, M., 2016, Gray Wolf Optimizer for hyperspectral band selection. *Applied Soft Computing*, 40, 178-186.
- Mirjalili, S, Mirjalili, V., & Lewis, A., 2014, Grey wolf optimizer. *Advances in Engineering Software*, 69, 46-61.
- Motavali, A., Najafi, G.H., Abbasi, S., Minaei, S., & Ghaderi, A., 2013. Microwave-vacuum drying of sour cherry: comparison of mathematical models and artificial neural networks. *Journal of Food Science and Technology*, 50(4), 714-722
- Saghatforoush, A., Monjezi, M., Faradonbeh, R.S., & Armaghani, D.J., 2016, Combination of neural network and ant colony optimization algorithms for prediction and optimization of flyrock and back-break induced by blasting. *Engineering with Computers*, 32 (2), 255-266.
- Song, X., Tang, L., Zhao, S., Zhang, X., Li, L., & Huang, J., Cai, W., 2015, Grey wolf optimizer for parameter estimation in surface waves. *Soil Dynamics and Earthquake Engineering*, 75, 147-157.
- Sulaiman, M.H., Mustaffab, Z., Mohameda, M.R., & Aliman, O., 2015, Using the gray wolf optimizer for solving optimal reactive power dispatch problem. *Applied Soft Computing*, 32, 286-292.
- Tavakolipour, H., Mokhtarian, M., & Kalbasi-Ashtari, A., 2014, Intelligent monitoring of zucchini drying process based on fuzzy expert engine and ANN. *Journal of Food Process Engineering*, 37(5), 474- 481



Prediction of effective moisture diffusivity and specific energy consumption of eggplant in continuous band drying using some novel methods

M. Kaveh^{1*}, R. Amiri Chachan², Y. Abbaspour Gilandeh³, T. Mesri⁴

Received: 2017.04.14

Accepted: 2018.03.15

Introduction: Eggplant (*Solanum melongena*L.) is being cultivated in North America, Asia and the Mediterranean area. Its limited shelf life is one of the important restrictions in the trade of eggplant as a fresh product. Drying is one of the most current methods used to maintenance agricultural products. This process improves the food stability, since it reduces significantly the water and microbiological activity of the material and minimizes physical and chemical changes during its storage. Dynamic modeling of drying characteristics for various agricultural products, including artificial intelligence techniques that include artificial neural networks (ANNs), particle swarm optimization (PSO) and grey wolf optimizer (GWO) Which has attracted a lot of attention recently, because the ability to learn from these systems to detect fruit and vegetable behaviors is a complex process in which mathematical models simply do not apply in recent decades. The main objective of this research was to determine the effective moisture diffusivity, and specific energy consumption of eggplant slices with a semi-industrial continuous band dryer. Moreover, some novel methods including ANN, PSO and GWO as an approximating tools were developed and evaluated for prediction of D_{eff} and SEC of the process.

Materials and methods: Freshly harvested eggplant were purchased from a local market and stored in the refrigerator at about 4°C for experiments. The initial moisture content of eggplant was determined by oven method. About 40 g of eggplant slice (4 mm thickness) with three replicates were dried at 70°C for 24 h. Eggplant slice with average initial moisture content of 10.25% (d.b.) was chosen as the drying material.

The dryer consists of an adjustable centrifugal blower, hot air suction tube, heater, control panel, air channel to uniform distribution of hot air, drying chamber, Belt (20 cm, 200 cm), three inverters (LS, Korea), temperature and humidity sensors, electrical motor, removable upper part, base, shafts, three infrared lamps (Philips, Belgium) and belt guide. The experiments were performed at air temperatures of 45, 60, and 75°C, air velocities of 1, 1.5, and 2 m/s, and belt linear speeds of 2.5, 6.5, and 10.5 mm/s. Feed and cascade forward neural networks were used in this study. There are two types of multilayer perceptron neural network. Two training algorithms including LevenbergMarquardt (LM) and Bayesian regulation (BR) back propagation algorithms were used for updating network weights. The PSO is a simple, powerful and metaheuristic technique that can be applied to solve optimization problems. In the PSO model, every solution is showed as a particle that is alike to a bird flying via the space of a potential solution. In order to mathematically model the social governance of wolves when designing Grey Wolf Optimizer (GWO), assume the fittest solution as the alpha (α). Consequently, the second and third best solutions are named beta (β) and delta (δ), respectively.

Results and discussion: In the present study, the application of Artificial Neural Network (ANN), particle swarm optimization (PSO) and grey wolf optimizer (GWO) for predicting the D_{eff} and SEC was investigated. Based on several statistical operates [such as coefficient of correlation (R^2) and mean-square error (MSE), mean absolute error (MAE)], for predicting D_{eff} and SEC was found that the GWO ($R^2=0.9915$, $R^2=0.9986$, Respectively) performs better than the PSO (with $R^2=0.9927$, $R^2=0.9890$) and ANN (with $R^2=0.9618$, $R^2=0.9773$) models. Drying behavior of eggplant slices at different air temperatures of 45, 60, and 75°C, air velocities of 1, 1.5, and 2 m/s and belt linear speeds of 2.5, 6.5, and 10.5 mm/s was studied. The moisture ratio was reduced exponentially with drying time as expected. When the temperature was increased, the drying time eggplant fruit reduced. In other words, at high temperatures, the transfer of heat and mass was higher and the water loss was more excessive. Effective moisture diffusivity and specific energy consumption were

1, 3 and 4. Department of Biosystem Engineering, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2. Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

(* Corresponding author: sirwankaweh@uma.ac.ir)

calculated after drying of turnip fruit. Maximum values of D_{eff} for eggplant were $1.14 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$. The lowest amount specific energy consumption (SEC) was calculated at the boundary of 130.62 MJ/kg.

Keywords: Eggplant; effective moisture diffusivity and specific energy consumption, ANN, PSO, GWO

بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسیدهای جنتیسیک و آلفا-رزورسیلیک در محیط‌های روغنی و امولسیون‌های روغن در آب آنها

آزاده مردانی قهفرخی¹ - رضا فرهوش^{2*} - علی شریف³

تاریخ دریافت: 1396/04/27

تاریخ پذیرش: 1397/04/16

چکیده

فعالیت آنتی‌رادیکالی و آنتی‌اکسیدانی اسیدهای جنتیسیک و آلفا-رزورسیلیک اسید در محیط‌های مختلف: حلال متانول، روغن‌های تخلیص شده سویا و زیتون، و امولسیون‌های روغن در آب آنها مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات با ساختمان مولکولی آنها ارتباط نزدیکی داشت. اسید جنتیسیک به دلیل قرار داشتن یکی از گروه‌های عاملی هیدروکسیل در موقعیت اورتو حلقه فنلی‌اش، فعالیت آنتی‌رادیکالی و آنتی‌اکسیدانی بسیار بالاتری نسبت به اسید آلفا-رزورسیلیک (که هر دو گروه عاملی هیدروکسیلی در موقعیت متای حلقه فنلی قرار گرفته است)، در هر سه محیط مورد آزمایش، از خود نشان داد. همچنین ساختار آبدوست‌تر اسید جنتیسیک موجب گردید این ترکیب فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در روغن‌های زیتون و سویا، نسبت به امولسیون‌های روغن در آب آنها نشان دهد، در حالی که آلفا-رزورسیلیک به دلیل دارا بودن ساختار آبگریزتر، در امولسیون‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به روغن داشت. محیط متانولی استفاده شده به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌رادیکالی DPPH اسید جنتیسیک و آلفا-رزورسیلیک، به دلیل برقراری پیوند هیدروژنی با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مورد آزمایش، موجب کاهش چشمگیر در فعالیت آنتی‌رادیکالی این ترکیبات گردید.

واژه‌های کلیدی: اسید جنتیسیک، اسید آلفا-رزورسیلیک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، روغن‌های گیاهی، امولسیون

مقدمه

می‌باشند که با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی قادر به ایفای نقش مهمی در جلوگیری از اکسایش مواد غذایی و حفظ سلامتی می‌باشند. فرایند اکسایش چربی‌ها و روغن‌ها با تخریب اسیدهای چرب ضروری و تولید ترکیبات مخرب اکسایشی موجب از بین بردن خواص تغذیه‌ای و چشایی مواد غذایی گشته و اثرات مخربی بر سلامت افراد می‌گذارد (Marinova & Yanishlieva, 2003).

از منظر ساختار شیمیایی تمامی اسیدهای هیدروبنزوئیک از نظر وجود حلقه فنولی و دست کم یک گروه کربوکسیل در ساختمان مولکولی شباهت دارند و تنها تفاوت آنها از نظر تعداد و موقعیت گروه‌های عاملی همچون هیدروکسی، متوکسی و آلکیل استر است (Biskup et al., 2013). وجود گروه‌های هیدروکسیل در ساختمان اسیدهای هیدروبنزوئیک، خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری در مقایسه با سایر گروه‌های عاملی به این ترکیبات می‌دهند (Farhoosh et al., 2016). ثابت شده افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل و قرارگیری این گروه‌ها در موقعیت اورتو و پارای حلقه فنلی، نقش کلیدی در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات ایفا می‌کند (Cheng et al., 2003).

ترکیبات فنلی، متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که به شکل وسیعی در طبیعت توزیع گشته‌اند، به‌طوری که تا به حال حدود هشت هزار ترکیب فنلی در بخش‌های مختلف گیاهان شناسایی شده است (Herrmann, 1989). فنل‌ها به‌طور گسترده در صنایع مختلف از قبیل تولید رنگ، دارو، آنتی‌اکسیدان‌ها، حشره‌کش‌ها، طعم‌دهنده‌ها و مواد معطر مورد استفاده قرار می‌گیرند (Verpoorte et al., 2002). ترکیبات مختلفی از جمله اسیدهای فنولی، تانن‌ها، فلاونوئیدها و کومارین‌ها در زمره ترکیبات فنلی قرار دارند. این ترکیبات از نظر فعالیت‌های بیولوژیکی مانند خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضدالتهای و ضدسرطانی همواره مورد توجه بوده‌اند (Middleton et al., 2000).

اسیدهای هیدروبنزوئیک، شاخه مهمی از اسیدهای فنولی

1 و 2 - به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

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

DOI: 10.22067/ifstrj.v14i5.66201

فعالیت آنتی اکسیدانی اسیدهای هیدروبنزوئیک تابع توانایی انتقال هیدروژن یا الکترون از این ترکیبات به رادیکال‌های آزاد می‌باشد. افزایش تعداد مولکولهای هیدروژن و کاهش انرژی پیوند این هیدروژنها موجب انتقال هرچه بیشتر و ساده تر آنها به رادیکال‌های آزاد و در نتیجه خنثی سازی این رادیکال‌ها می‌گردد. هیدروژن گروه‌های هیدروکسیل قرار گرفته در مجاورت گروه اسیدی کربوکسیلی حلقه فنلی (موقعیت اورتو) به دلیل قابلیت ایجاد پیوند هیدروژنی درون مولکولی با این گروه اسیدی، آنتالپی تفکیک پیوندی پایینتری نسبت به هیدروژن‌های قرار گرفته در موقعیت‌های دورتر از گروه اسیدی کربوکسیلی (متا) پیدا کرده، با سهولت بیشتری از آنتی اکسیدان جدا و به رادیکال آزاد منتقل می‌گردد (Farhoosh et al., 2016).

علاوه بر ویژگی‌های ساختمانی آنتی اکسیدان‌ها، ثابت دی الکتریک و قدرت یونی محیط به کار گرفته شده به منظور سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی، تاثیر بسزایی بر میزان فعالیت آنها دارد. بالا بودن تمایل محیط در برقراری پیوند هیدروژنی بین مولکولی با آنتی اکسیدان‌ها موجب کاهش پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی آنتی اکسیدان و به تبع آن کاهش فعالیت آنتی رادیکالی این ترکیبات می‌گردد (Shahidi, 2015). از این رو استفاده از محیط‌های متفاوت، کمک شایانی در درک بهتر مکانیسم و فعالیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات خواهد کرد.

اسید جنتیسیک (3 و 5- دی هیدروبنزوئیک اسید) و اسید آلفازوروسیلیک (2 و 5- دی هیدروبنزوئیک اسید)، ترکیبات اسید دی هیدروبنزوئیکی هستند که به طور گسترده در منابع گیاهی از جمله درخت کاکائو، چغندر قند، تمشک، آواکادو، غلات، گردو و حتی صمغ عربی شناسایی شده‌اند (Billaud et al., 1996; Shahidi et al., 2004; Griffiths, 1959 2003; Sakas et al., 2004). این ترکیبات علاوه بر خاصیت آنتی اکسیدانی، اثرات سلامتی بخشی چون خصوصیات ضدسرطانی، ضدتومور، ضدالتهابی و قابلیت پیشگیری از ابتلا به بیماریهای قلبی را نیز دارا می‌باشند (Ashidate et al., 2005).

از آنجایی که کارایی و درجه تاثیرگذاری آنتی اکسیدان‌ها به سهولت جدا شدن اتم هیدروژن از آنها مربوط می‌شود، وجود حلقه بنزن و دو گروه هیدروکسیل در ساختمان اسیدهای جنتیسیک و آلفازوروسیلیک ممکن است خصوصیات آنتی اکسیدانی مناسبی به این ترکیبات ببخشد (Shahidi & Wanasundara, 1992). به طوری که در پژوهشی که Réblová (2012) به منظور بررسی تاثیر آنتی اکسیدانها بر فرایند اکسایش چربی‌های خوراکی در دماهای مختلف انجام دادند، اسید جنتیسیک قادر به افزایش چشمگیری در پایداری اکسایشی چربی خوک حتی تا دمای 150 درجه سانتی‌گراد گردید. همچنین در پژوهشی که Perez-Gonzalez در خصوص

مطالعه تاثیر تفاوت‌های ساختاری بر مکانیسم اثر آنتی اکسیدانی اسیدهای دی هیدروبنزوئیک در محیط‌های قطبی و محلول‌های آبی به انجام رسانید، اسید جنتیسیک به عنوان یکی از موثرترین آنتی رادیکال‌ها در بین اسیدهای دی هیدروبنزوئیک مورد آزمون شناخته شد. این در حالی است که اسید آلفازوروسیلیک با فرمول شیمیایی مشابه اسید جنتیسیک، فعالیت آنتی اکسیدانی پایینی نشان داده است (Perez-Gonzalez et al., 2014). نتایج مشابهی نیز در پژوهشی که Biskup و همکارانش (2013) که به منظور برآورد فعالیت آنتی اکسیدانی برخی ترکیبات فنلی توسط روش‌های ABTS (Absorbance of 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-FRAP (The ferric reducing antioxidant و suslfonic acid) power) انجام گرفت، گزارش گردیده است. در این پژوهش‌ها علت تفاوت فعالیت آنتی اکسیدانی اسیدهای جنتیسیک و آلفازوروسیلیک به تفاوت ساختاری آنها نسبت داده شده است، مشترک بودن یک گروه هیدروکسیل در موقعیت 5 حلقه بنزن و قرارگیری گروه هیدروکسیل دیگر در موقعیت اورتو ساختمان اسیدهای جنتیسیک و متای آلفازوروسیلیک (شکل 1) عامل مهم تفاوت در فعالیت آنتی اکسیدانی آنها می‌باشد. البته در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات حتما باید ویژگی‌های محیط و تاثیراتی که محیط مورد استفاده بر گروه‌های عاملی آنتی اکسیدان‌ها و پیوندهای بین مولکولی و درون مولکولی آنها می‌گذارد را نیز مد نظر قرار داد. در واقع، آنتی اکسیدان‌ها در محیط‌های مختلف، رفتارهای متفاوتی از خود بروز می‌دهند (Shahidi et al., 2015).

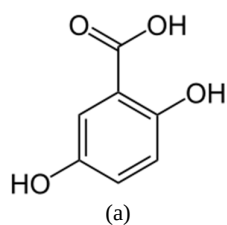
از این رو در این پژوهش تاثیر ویژگی‌های ساختمانی اسیدهای جنتیسیک و آلفازوروسیلیک بر فعالیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات، تحت تاثیر محیط‌های مختلف آزمون: متانولی، لیپیدی با درجه اشباعیت متفاوت و امولسیون مورد مطالعه قرار گرفته است. اسیدهای جنتیسیک و آلفازوروسیلیک شباهت ساختاری بالایی داشته و تنها از نظر موقعیت قرارگیری یکی از گروه‌های عاملی هیدروکسیل در حلقه بنزنی متفاوت هستند. این تفاوت ساختمانی بر خصوصیات آنتی اکسیدانی این ترکیبات و قرارگیری آنها در مکان رخ دادن فرایند اکسایش یعنی سطح مشترک روغن - هوا در سیستم لیپیدی و سطح مشترک روغن - آب در سیستم امولسیونی تاثیر به سزایی خواهد داشت.

مواد و روش‌ها

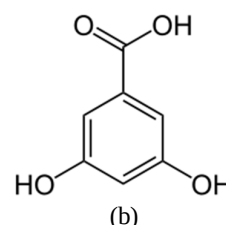
روغن‌های زیتون و سویای تصفیه، رنگبری و بوگیری شده فاقد آنتی اکسیدان افزوده شده، به ترتیب از واحدهای صنعتی اتکا و سه گل نیشابور خریداری و تا زمان آزمون در دمای 4°C- در تاریکی نگهداری شد. ترکیب اسیدهای چرب این روغن‌ها در جدول 1 نشان

داده شده است. اسیدهای آلفازورسیلیک و جنتیسیک از شرکت مرک آلمان و سایر مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از شرکت مرک

و سیگما تهیه شدند



(a)



(b)

شکل 1- ساختمان مولکولی اسید جنتیسیک (a) و اسید آلفازورسیلیک (b).

جدول 1- ترکیب اسیدهای چرب نمونه‌های روغن

اسید چرب	نام اختصاری	روغن سویا (%)	روغن زیتون (%)
اسید پالمیتیک	C16:0	11/66 ± 0/1	11/12 ± 0/27
اسید پالمیتولیک	C16:1	0/81 ± 0/16	1/31 ± 0/2
اسید استئاریک	C18:0	4/62 ± 0/23	4/2 ± 0/07
اسید اولئیک	C18:1	22/08 ± 0/01	68/4 ± 0/17
اسید لینولیک	C18:2	51/4 ± 0/05	8/67 ± 0/17
اسید لینولیک	C18:3	7/92 ± 0/19	0/62 ± 0/05
نسبت اسیدهای چرب چند غیر اشباع به اسیدهای چرب اشباع			
نسبت اسیدهای چرب تک غیر اشباع به چند غیر اشباع			
شاخص اکسایش پذیری روغن			
	PUFA/SFA	3/33 ± 0/06	0/48 ± 0/02
	MUFA/PUFA	0/78 ± 0/2	7/99 ± 0/11
	COX Value ^a	7/24 ± 0/15	1/75 ± 0/03

$$^a \text{شاخص اکسایش پذیری روغن} = [1(\text{C18:1}\%) + 10.3(\text{C18:2}\%) + 21.6(\text{C18:3}\%)] / 100$$

تخلیص روغن‌ها

به منظور حذف توکوفرول و آنتی اکسیدانهای طبیعی موجود در روغن‌ها، از روش کروماتوگرافی استفاده شد (Yanishlieva & Marinova, 1995). 130 گرم روغن از ستون کروماتوگرافی با طول 25 و قطر 2/5 سانتی متر، پر شده با 70 گرم اکسید آلومینوم 60 (فعال، خنثی) و 15 گرم سیلیکاژل عبور داده و توسط مکش و بدون استفاده از حلال جمع آوری گردید. برای اطمینان از حذف کامل آنتی اکسیدانهای طبیعی، هر روغن دو بار از ستون‌های کروماتوگرافی پر شده تازه عبور داده شد (Yoshida et al., 1992). به منظور فعال سازی مواد جاذب پیش از استفاده، به مدت 3 ساعت در دمای 200 درجه سانتیگراد قرار داده شدند. اطراف ستون کروماتوگرافی و ارلن بوخنر با ورقه آلومینیومی پوشیده شد تا از اکسایش روغن جلوگیری به عمل آید.

تهیه امولسیون روغن در آب

به منظور تهیه فاز آبی امولسیون، 1 گرم توین 20 در 90 میلی لیتر آب دوبار تقطیر حل و سپس برای اطمینان از حل شدن کامل توین در آب، به مدت 12 ساعت در دمای اتاق توسط همزن مغناطیسی همزده شد. سپس فاز آبی به مخلوط کن با سرعت بالا

(Waring Commercial, USA) منتقل شد و 10 گرم روغن حاوی 200 پی پی ام آنتی اکسیدان، قطره قطره به آن اضافه و به مدت 2 دقیقه هم زده شد. امولسیون حاصله توسط دستگاه اولتراتراکس با سرعت 12000 دور در دقیقه، به مدت 3 دقیقه همگن شد. برای پایداری بیشتر، امولسیون در بین تمامی مراحل در حمام یخ نگهداری گردید.

اندازه گیری ضریب توزیع (Log P)

محلول 0/3 میلی مولار از هر آنتی اکسیدانی در 1-اکتانول تهیه شد و به مدت یک ساعت در دمای 60 درجه سانتیگراد نگهداری گردید. طیف UV این محلول گرفته و جذب حداکثر آن گزارش شد (A_0). سپس حجم برابری از محلول بافر استات (pH برابر 5/5 و 3/5، غلظت 0/1 مولار) و محلول نمونه در 1-اکتانال مخلوط شد و 2500 دور در دقیقه و رتکس گردید. پس از سی دقیقه، میزان حداکثر جذب لایه 1-اکتانول در ناحیه فرابنفش قرائت شد (A_x). ضریب توزیع آنتی اکسیدانها (P) بر اساس معادله 1 محاسبه گردید (Gordon et al., 2001; Lima et al., 2006).

$$P = \frac{A_x}{A_0 - A_x} \quad (1)$$

آزمون DPPH

به منظور اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات، از رادیکال آزاد 2 و 2- دی فنیل هیدرازیل استفاده شد. از هر آنتی اکسیدان غلظت های مختلف (بسته به قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد) در متانول تهیه گردید و سپس یک میلی لیتر از هر غلظت آنتی اکسیدان ها با یک میلی لیتر از محلول 0/006 درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول واکنش داده شد (Lima et al., 2006). پس از نگهداری به مدت 30 دقیقه در مکان تاریک، جذب نمونه ها در طول موج 517 نانومتر (A_s) در برابر شاهد (A_c) قرائت شد. درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط نمونه های مختلف (I%) برحسب معادله (2) محاسبه شد:

$$I\% = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \quad (2)$$

پس از رسم نمودار درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد در غلظت های مختلف نمونه، غلظتی از نمونه که 50 درصد رادیکال آزاد را مهار کرد از طریق درون یابی به عنوان فاکتور IC_{50} گزارش شد و بر اساس این فاکتور طبق معادله (3) فعالیت آنتی رادیکالی (RSA) محاسبه گردید (Brand-Williams et al., 1995).

$$RSA = 100 \times (1/IC_{50}) \quad (3)$$

پایش پایداری اکسایشی روغن ها

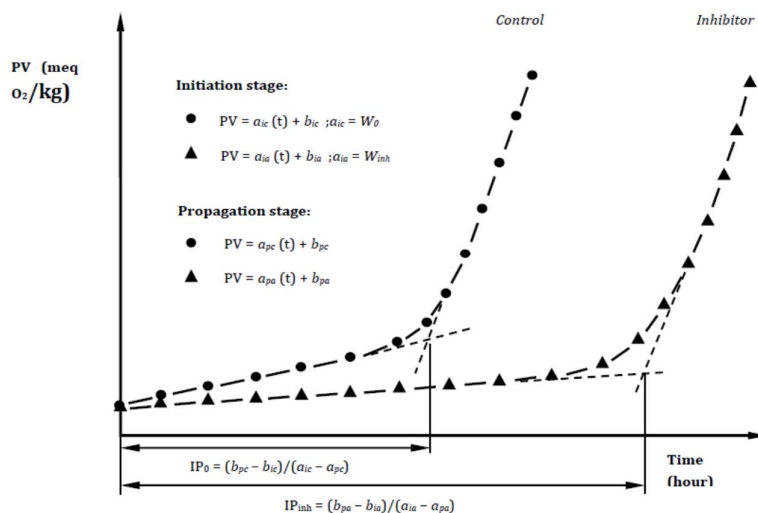
به منظور انجام فرایند اکسایش تحت رژیم سینتیکی که در آن اکسیژن عامل محدودکننده نباشد، 4 گرم روغن تخلیص شده حاوی 200 پی پی ام آنتی اکسیدان به پلیت شیشه ای با قطر 9 سانتی متر منتقل شد. فرایند اکسایش در دمای 80 درجه سانتی گراد آون، با نمونه گیری طی زمان های متوالی و اندازه گیری عدد پراکسید به روش اسپکتروفتومتری پایش شد (Shantha & Decker, 1994).

کارایی آنتی اکسیدان در روغن بر اساس دوره القا اکسایش تخمین زده شد. به منظور محاسبه دوره القا اکسایش لیپیدی بر حسب عدد پراکسید، نمودار تغییرات شاخص های مزبور در مقابل زمان ترسیم گردید (شکل 2)، سپس معادلات خطی مرتبط با بخش های آغازین و انتشار اکسایش لیپیدی برازش داده شد و آنگاه دوره های القا از تلاقی دادن معادلات خطی یاد شده محاسبه گردید (Farhoosh & Hoseini-Yazdi, 2013).

فعالیت آنتی اکسیدانی در روغن بر اساس معادله 4 محاسبه شد:

$$A = (IP_{inh} \times W_0) / (IP_0 \times W_{inh}) \quad (4)$$

IP_{inh} دوره القا اکسایش در حضور آنتی اکسیدان، IP_0 دوره القا اکسایش در عدم حضور آنتی اکسیدان، W_{inh} و W_0 سرعت اکسایش (شیب خطی مرحله آغازین اکسایش لیپیدی) به ترتیب در حضور و عدم حضور آنتی اکسیدان می باشند.



شکل 2- منحنی شماتیک تولید پراکسید طی اکسایش سیستم های لیپیدی

ظروف مخصوص دستگاه ریخته و با گاز اکسیژن با خلوص بالا اشباع شد. سپس برای تسریع واکنش به هر ظرف 10 میکرولیتر $AAPH^1$ (100 میلی مولار) تزریق گردید و بلافاصله میزان کاهش فشار

پایش پایداری اکسایشی امولسیون ها

فرایند اکسایش در امولسیون ها به شیوه Lingnert و همکاران (1979)، بر اساس اندازه گیری میزان مصرف اکسیژن در امولسیون طی فرایند اکسایش، با استفاده از دستگاه YSI مدل 5300A در دمای 70 درجه سانتی گراد، پایش شد. 3 میلی لیتر از هر امولسیون در

¹ 2,2-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride

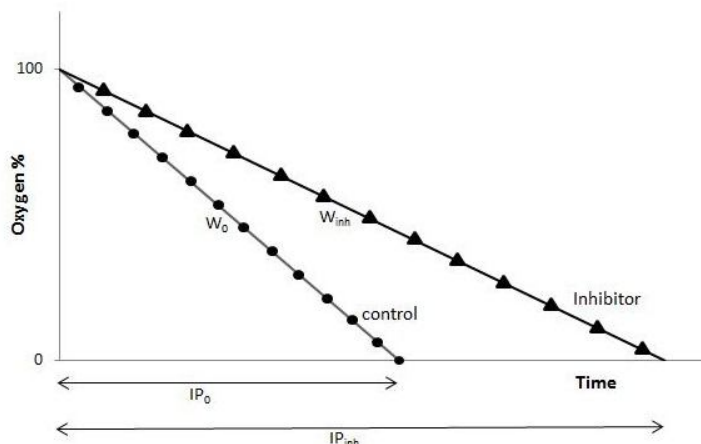
آنتی اکسیدان، IP_0 دوره القا اکسایش در عدم حضور آنتی اکسیدان،
 W_0 و W_{inh} سرعت اکسایش به ترتیب در حضور و عدم حضور
 آنتی اکسیدان می باشند.

اکسیژن توسط دستگاه اندازه گیری شد (شکل 3).

فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس معادله 5 محاسبه شد:

$$A = (IP_{inh} \times W_0) / (IP_0 \times W_{inh}) \quad (5)$$

IP_{inh} دوره القا اکسایش بر پایه فشار اکسیژن در حضور



شکل 3- منحنی شماتیک درصد مصرف اکسیژن طی اکسایش سیستم های امولسیون

گروه هیدروکسیل در حلقه آروماتیک، نقش بسزایی در افزایش قطبیت و حلالیت ترکیبات ایفا خواهد کرد.

در ساختمان مولکولی اسید جنتیسیک، یکی از دو گروه هیدروکسیل در موقعیت اورتو حلقه فنلی قرار دارد. این گروه کِشنده الکترون، از نظر موقعیت مکانی به گروه اسیدی کربوکسیل نزدیکتر بوده و بنابراین قادر است از طریق ایجاد پیوند درون مولکولی با گروه کربوکسیل، احتمال پروتونه شدن این گروه اسیدی را کاهش دهد. همچنین با اعمال اثر القایی بر گروه اسید کربوکسیل و کشاندن دانسیته الکترونی پیوند اکسیژن - هیدروژن به سمت اکسیژن، بار جزئی منفی در اکسیژن و بار جزئی مثبت در هیدروژن ایجاد کرده و موجب افزایش قطبیت اسید جنتیسیک گردد (Perez-Gonzalez et al., 2014). در حالی که در اسید آلفازورسیلیک هر دو گروه هیدروکسیل در موقعیت متای حلقه فنلی (دورتر از گروه کربوکسیل) قرار دارند و به دلیل فاصله بیشتر، اثر کِشندگی الکترون و القایی کمتری نسبت به گروه اورتو بر روی گروه کربوکسیل اعمال می کند، بنابراین اسید آلفازورسیلیک قطبیت پایینتر و ضریب توزیع بالاتری نسبت به اسید جنتیسیک نشان می دهد.

با کاهش pH از 5/5 به 3/5 افزایش در مقدار ضریب توزیع هر دو ترکیب مشاهده گردید. علت این امر را می توان به افزایش غلظت یون $[H]^+$ در محیط نسبت داد. با افزایش اسیدیته، غلظت یون $[H]^+$ در محیط افزایش یافته و به تبع آن احتمال پروتونه شدن گروه اسیدی کربوکسیل ترکیبات افزایش می یابد، با پروتونه شدن گروه اسیدی این ترکیبات میزان حلالیت آنها در فاز آبی کاهش یافته و Log P افزایش

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

تمامی اندازه گیری ها در سه تکرار انجام و نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس گردید. میانگین صفات با نرم افزار آماری SPSS و بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح 5 درصد ($P < 0/05$) مقایسه شدند. به منظور ترسیم نمودارهای مربوطه از نرم افزار Microsoft Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

ضریب توزیع (Log P)

ضریب توزیع ترکیبات آنتی اکسیدانی براساس میزان توزیع نسبی آنها در آب و 1- اکتانول، بر مبنای $pKa=4.5$ ترکیبات فنلی، در pH های 3/5 و 5/5 اندازه گیری شد. مقدار این شاخص به عواملی چون قطبیت، حلالیت و خصوصیات ساختمانی این ترکیبات بستگی دارد، ترکیباتی با قطبیت بیشتر تمایل بیشتری برای ورود به فاز آبی دارند و در نتیجه ضریب توزیع پایین تری را نشان می دهند (Schwarz et al., 2000).

همانگونه که در جدول 2 نشان داده شده، در هر دو pH 3/5 و 5/5، اسید جنتیسیک ضریب توزیع پایینتری نسبت به اسید آلفازورسیلیک نشان داده است. این تفاوت نشان دهنده ساختمان آبدوست تر اسید جنتیسیک نسبت به اسید آلفازورسیلیک می باشد. در pH های اسیدی که گروه کربوکسیل ترکیبات فنولی تمایل به پروتونه شدن پیدا می کند، وجود گروه های کِشنده الکترونی مانند

می‌یابد.

به‌طور عمده‌ای به تعداد و آرایش گروه‌های هیدروکسی در مولکول بستگی دارد. افزایش گروه‌های هیدروکسیلی در ترکیب، احتمال اهدا هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن افزایش مهار رادیکال‌های آزاد را در پی دارد (Sroka & Cisowski, 2003).

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد (RSA) ترکیبات مزبور براساس فاکتور IC₅₀ (غلظتی از آنتی‌اکسیدان که 50 درصد رادیکال آزاد را مهار می‌کند) اندازه‌گیری و در جدول 3 نشان داده شد. همانگونه که مشخص است، میزان RSA ترکیب اسید جنتیسیک حدود 10 برابر اسید آلفازورسیلیک اندازه‌گیری شده است. این نتایج نشان‌دهنده فعالیت بسیار بالاتر اسید جنتیسیک در مهار کردن رادیکال‌های آزاد DPPH نسبت به اسید آلفازورسیلیک می‌باشد. نتایج به‌دست آمده از این آزمون با یافته‌های Brand-Williams مطابقت داشت (Williams *et al.*, 1995).

در اسید جنتیسیک، گروه هیدروکسیل قرار گرفته در موقعیت اورتو حلقه فنلی، به دلیل نزدیکی به گروه اسید کربوکسیل ترکیب، تمایل به برقراری پیوند هیدروژنی درون مولکولی با این گروه اسیدی را دارا می‌باشد. با ایجاد این پیوند هیدروژنی درون مولکولی، پیوند اکسیژن-هیدروژن هیدروکسیل این موقعیت (اورتو) انرژی پیوند بسیار پایینی پیدا خواهد کرد که جدا شدن و انتقال هیدروژن از این موقعیت به رادیکال آزاد DPPH را راحتتر و سریعتر خواهد کرد. شکل رادیکالی اسید جنتیسیک بعد از جدا شدن هیدروژن‌ها نیز از طریق رزونانس، ساختار پایدار کوئینون را تشکیل می‌دهد که تمایلی برای شرکت در واکنش‌های رادیکالی به‌عنوان رادیکال آغازگر را ندارد (شکل 4).

جدول 2- ضریب توزیع (Log P) اسیدهای جنتیسیک و

آلفازورسیلیک		
ترکیبات فنلی	ضریب توزیع (Log P) در pH	
	3/5	5/5
اسید جنتیسیک	0/37 ± 0/02 ^b	-0/66 ± 4/04 ^a
اسید آلفا-رزورسیلیک	0/49 ± 0/01 ^a	-0/45 ± 0/02 ^b

حروف مختلف در هر ستون به معنی وجود اختلاف معنی‌دار در سطح 95% است

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

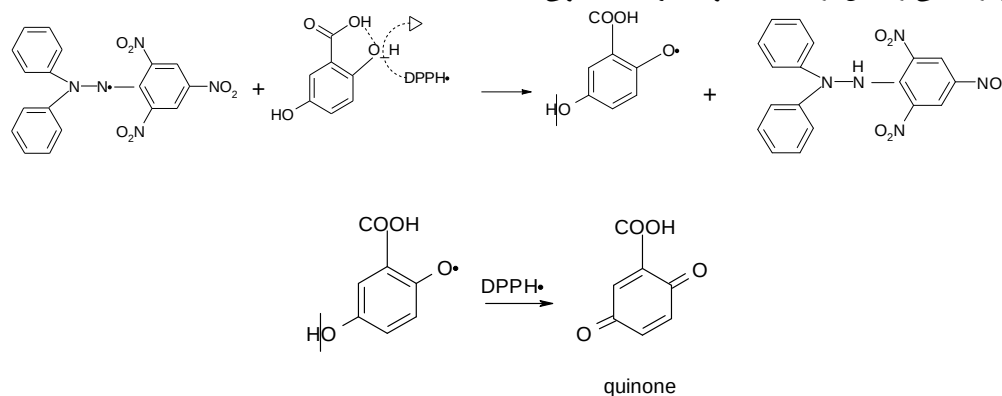
استفاده از رادیکال DPPH پایدار، روشی سریع، آسان و ارزان به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف است. با جذب مولی رادیکال DPPH در طول موج 517 نانومتر، الکترون ناپیوندی این رادیکال با یک اتم هیدروژن متعلق به آنتی‌اکسیدان واکنش می‌دهد و رنگ محلول برحسب شدت مهار رادیکال، از بنفش به زرد تغییر پیدا می‌کند.

جدول 3- فعالیت آنتی‌رادیکالی اسیدهای جنتیسیک و آلفازورسیلیک

در خنثی‌سازی رادیکال‌های DPPH		
ترکیبات فنلی	IC ₅₀ (میکرو مولار)	فعالیت آنتی رادیکالی (RSA)
اسید جنتیسیک	37 ± 1/1 ^b	2/7 ± 0/04 ^a
اسید آلفا-رزورسیلیک	383 ± 2/9 ^a	0/26 ± 0/01 ^b

حروف مختلف در هر ستون به معنی وجود اختلاف معنی‌دار در سطح 95% است

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط ترکیبات فنولی



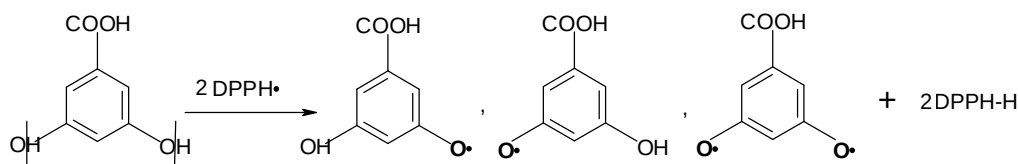
شکل 4- مکانیسم احتمالی به دام انداختن رادیکال‌های DPPH توسط اسید جنتیسیک و تشکیل کوئینون

کمتر خواهد بود. به همین دلیل فعالیت پایین‌تری در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نسبت به اسید جنتیسیک از خود نشان داده است. همچنین مطابق شکل 5 اسید آلفازورسیلیک از نظر ساختمانی،

در اسید آلفازورسیلیک، به دلیل قرارگیری هر دو گروه هیدروکسیل در موقعیت متای حلقه فنلی، توانایی ایجاد پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی و جدا شدن هیدروژن از این موقعیت‌ها

رادیکال پایدار را ندارد (Kawabata *et al.*, 2002).

پس از جدا شدن هیدروژن‌ها، توانایی تشکیل کوئینون به عنوان



شکل 5- مکانیسم احتمالی به دام انداختن رادیکال‌های DPPH توسط اسید آلفا رزورسیلیک

نسبت سرعت واکنش اولئات، لینولات و لینولات با اکسیژن به ترتیب 1، 12 و 25 گزارش شده است (Schaich *et al.*, 2013). روند اکسایشی روغن‌های زیتون و سویا، بر اساس سرعت تولید هیدروپراکسید و طول مدت مرحله آغازین اکسایش در حضور و عدم حضور اسیدهای جنتیسیک و آلفا رزورسیلیک در دمای 80 درجه سانتی‌گراد در جدول 4 نشان داده شده است. استفاده از اسید جنتیسیک در هر دو روغن زیتون و سویا، به ترتیب با فعالیت آنتی اکسیدانی 804/5 و 68/3 پایداری اکسایشی این روغن‌ها را به میزان چشمگیری افزایش داد. این در حالی است که اسید آلفا رزورسیلیک در روغن زیتون و سویا به ترتیب فعالیت آنتی اکسیدانی 2/4 و 1/7 نشان داد.

فعالیت آنتی اکسیدانی در روغن‌های گیاهی

ساختار اسید چربی روغن‌های گیاهی مورد استفاده در این پژوهش در جدول 1 نشان داده شده است. شاخص اکسایش پذیری (COX Value) روغن سویا تقریباً 4 برابر روغن زیتون برآورد گردید. ترکیب اسید چربی روغن‌ها نقش بسیار مهمی در پایداری اکسایشی آنها ایفا می‌کند. وجود اسیدهای چرب چندغیراشباعی در روغن سویا، موجب افزایش سرعت فرایند اکسایش این روغن نسبت به روغن زیتون گردید. در اسیدهای چرب چندغیراشباعی بالا بودن فعالیت گروه‌های متیلنی بین دو باند دوگانه، موجب پایینتر بودن انرژی پیوند کربن-هیدروژن در این اسیدها و به تبع آن حساسیت بالاتر نسبت به فرایند اکسایش و تشکیل رادیکال آزاد در مقایسه با اسیدهای تکغیراشباعی می‌گردد (Akoh, 2002)، به طوری که

جدول 4- پارامترهای سینتیکی تشکیل پراکسید در طول دوره اکسایش روغن‌های گیاهی در دمای 80 درجه سانتی‌گراد

آنتی اکسیدان	Winh	IPinh (ساعت)	فعالیت آنتی اکسیدانی (A)
روغن زیتون	0/543 ± 0/05 ^d	9/35 ± 0/12 ^{bc}	-
شاهد (بدون آنتی اکسیدان)	0/0218 ± 0/01 ^f	313/1 ± 1/96 ^a	804/5 ± 1/1 ^a
اسید جنتیسیک	0/28 ± 0/01 ^e	12/07 ± 0/34 ^b	2/39 ± 2/02 ^c
اسید آلفا-رزورسیلیک			
روغن سویا	15/38 ± 0/12 ^a	1/56 ± 0/08 ^c	-
شاهد (بدون آنتی اکسیدان)	1/82 ± 0/04 ^c	12/56 ± 0/42 ^b	68/03 ± 0/01 ^b
اسید جنتیسیک	11/05 ± 0/06 ^b	1/9 ± 0/1 ^c	1/70 ± 0/01 ^c
اسید آلفا-رزورسیلیک			

حروف مختلف در هر ستون و در هر نوع روغن به معنی وجود اختلاف معنی‌دار در سطح 95% است

اکسایش هستند. این رادیکال‌های ناپایدار، با جدا کردن هیدروژن را از اسیدهای چرب مجاور تشکیل هیدروپراکسید (ROOH) و رادیکال اسید چرب (R•) را داده و به همین منوال موجب گسترش فرایند اکسایش و تخریب روغن می‌شوند $R\bullet + RH \rightarrow R\bullet + ROOH$.

اسید جنتیسیک با انتقال هیدروژن به رادیکال‌های پراکسید تشکیل شده، قادر به توقف چرخه رادیکالی اکسایش می‌باشد $ROO\bullet + InH \rightarrow ROOH + In\bullet$ ، این ترکیب همچنین قادر است پس از جدا شدن اتم‌های هیدروژن‌اش، از طریق رزونانس به شکل پایدار کوئینون درآید که تمایلی برای شرکت در واکنش رادیکالی اکسایش

فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر اسید جنتیسیک در روغن‌ها، به تفاوت ساختمانی آن با اسید آلفا رزورسیلیک مرتبط است. وجود یکی از گروه‌های هیدروکسیلی در موقعیت اورتو حلقه فنلی اسید جنتیسیک فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری به این ترکیب می‌بخشد. همانگونه که قبلاً صحبت شد، پایینتر بودن آنتالپی تفکیک پیوند اکسیژن-هیدروژن گروه هیدروکسیلی در موقعیت اورتو نسبت به موقعیت متا موجب تسهیل جداسازی اتم هیدروژن و انتقال آن به رادیکال‌های آزاد از جمله پراکسید (ROO•) می‌شود (Ali *et al.*, 2013).

رادیکال‌های پراکسید، عوامل اصلی انتشار فرایند زنجیره‌ای

نداشته و بنابراین موجب قطع زنجیره‌ی اکسایش می‌شود (Shahidi & Zhong, 2015).

در مقایسه، اسید آلفازوروسیلیک به دلیل ساختار مولکولی که دارد (قرار گرفتن هر دو گروه هیدروکسیل در موقعیت متا) تمایل کمتری برای جدا شدن اتم‌های هیدروژن دارد. از طرفی رادیکال حاصله از جدا شدن اتم‌های هیدروژن این ترکیب، قادر به تشکیل کوئینون از طریق رزونانس نیست بنابراین ممکن است به‌عنوان یک رادیکال آغازگر در واکنش شرکت کند. به همین دلایل آلفازوروسیلیک اسید فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایینی در مقایسه با اسید جنتیسیک از خود نشان داد.

نتایج حاصله از این آزمون مشابه نتایج حاصله از آزمون DPPH بود با این تفاوت که در روش DPPH تحت تاثیر حلال متانولی استفاده شده، فعالیت آنتی رادیکالی پایینتری مشاهده گردید. ثابت دی‌الکتریک محیط متانولی در روش DPPH بسیار بالاتر از محیط لیپیدی است. ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی، بین گروه‌های هیدروکسیل حلال قطبی متانول و گروه‌های قطبی در آنتی‌اکسیدان‌ها، مانع جدا شدن راحت و سریع هیدروژن از ترکیبات

آنتی‌اکسیدانی و انتقال آنها به رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Zhang et al., 2013).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی در امولسیون‌های روغن در آب

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسیدهای جنتیسیک و آلفازوروسیلیک در امولسیون‌ها، بر اساس پارامترهای سینتیکی محاسبه شده در فرایند اکسایش، در جدول 5 نشان داده شده است. نتایج حاصله از این آزمون با نتایج به‌دست آمده از بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌ها در روغن‌ها متفاوت بود.

در مقایسه با روغن‌ها، اسید جنتیسیک در امولسیون‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار پایینتری از خود نشان داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید جنتیسیک در امولسیون‌های روغن‌های زیتون و سویا در آب به ترتیب 11/33 و 6/75 اندازه‌گیری شد. این در حالی است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این آنتی‌اکسیدان در روغن زیتون و سویا به ترتیب 804 و 68 برآورد شد.

جدول 5- پارامترهای سینتیکی مصرف اکسیژن در طول دوره اکسایش امولسیون‌های روغن در آب (دمای 37 درجه سانتی‌گراد)

آنتی‌اکسیدان	W_{inh}	IP_{inh} (ساعت)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (A)
روغن زیتون شاهد (بدون آنتی‌اکسیدان)	$-110/02 \pm 1/17^c$	$0/9 \pm 0/01^c$	-
اسید جنتیسیک	$-32/8 \pm 0/21^a$	$3/4 \pm 0/03^a$	$11/33 \pm 0/19^a$
اسید آلفا-رزوروسیلیک	$-52/94 \pm 0/83^b$	$1/88 \pm 0/01^b$	$4/3 \pm 0/23^c$
روغن سویا شاهد (بدون آنتی‌اکسیدان)	$-332/1 \pm 2/04^f$	$0/3 \pm 0/01^f$	-
اسید جنتیسیک	$-128 \pm 0/76^d$	$0/78 \pm 0/02^d$	$6/75 \pm 0/31^b$
اسید آلفا-رزوروسیلیک	$-199/4 \pm 0/94^e$	$0/5 \pm 0/01^e$	$2/77 \pm 0/42^d$

حروف مختلف در هر ستون در هر نوع روغن به معنی وجود اختلاف معنی‌دار در سطح 95% است

با توجه به نتایج حاصل از آزمون اندازه‌گیری ضریب توزیع ترکیبات (Log P)، اسید جنتیسیک حلالیت بالاتری در فاز آبی امولسیون نسبت به فاز روغنی دارد، بنابراین کمتر می‌تواند خود را به سطح مشترک روغن و آب رسانده و مانع از اکسایش روغن گردد. اگرچه اسید جنتیسیک به دلیل ساختمان مولکولی‌اش (قرارگیری یک گروه هیدروکسیل در موقعیت اورتو) همچنان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به اسید آلفازوروسیلیک در هر دو امولسیون از خود نشان داده، اما ساختمان آبگریز اسید آلفازوروسیلیک باعث شده این ترکیب فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری در امولسیون‌ها نسبت به روغن‌ها از خود نشان دهد.

اسید آلفازوروسیلیک با ضریب توزیع 0/24- در pH 5/5، حلالیت کمتری در فاز آبی امولسیون دارد بنابراین قادر است در سطح مشترک روغن-آب تجمع کند و از واکنش فاز روغنی امولسیون با

این نتایج را می‌توان توسط فرضیه تناقض قطبی² توضیح داد، طبق این تئوری، آنتی‌اکسیدان‌های آب‌گریزتر به‌طور موثرتری در فصل مشترک آب- روغن امولسیون‌ها قرار می‌گیرند و با ممانعت از تاثیر رادیکال‌های تولید شده در فاز آبی بر تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری از خود نشان می‌دهند و برعکس، آنتی‌اکسیدان‌های آبدوست‌تر تمایل بیشتری برای ماندن در فاز آبی امولسیون داشته و بنابراین قادر به محافظت از فاز لیپیدی امولسیون در سطح مشترک آب- روغن نیستند. در حقیقت فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات در سیستم‌های امولسیونی علاوه بر پتانسیل آنتی‌رادیکالی این ترکیبات، به میزان توزیعشان در سطح مشترک آب-روغن یعنی مکانی که اکسایش رخ می‌دهد نیز بستگی دارد (Zhong & Shahidi, 2012).

² Polar Paradox Theory

جنتیسیک بخشیده که موجب شد در محیط آبریز روغن، بیشتر در سطح مشترک هوا- روغن (مکانی که اکسایش در روغن رخ می‌دهد) قرار گرفته و مطابق فرضیه تناقض قطبی فعالیت آنتی اکسیدانی بهتری در روغن نسبت به سیستم امولسیون نشان دهد، در حالی که اسید آلفارزورسیلیک به دلیل ساختار آب گریزترش در محیط امولسیون (سطح مشترک آب روغن) فعالیت بهتری نشان داد.

میزان فعالیت آنتی رادیکالی ترکیبات آنتی اکسیدانی مورد آزمون به میزان چشمگیری تحت تاثیر محیط آزمایش قرار داشت. اسیدهای جنتیسیک و آلفارزورسیلیک در محیط روغنی نسبت به محیط متانولی فعالیت آنتی رادیکالی بسیار بالاتری نشان دادند. متانول استفاده شده در روش DPPH، با قابلیت برقراری پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی، موجب کاهش جدا شدن هیدروژن از ترکیبات و در نتیجه کاهش فعالیت آنتی رادیکالی آنها گردید، این در حالی بود که در روغن زیتون و سویا، شرایط پایین بودن ثابت دی الکتریک و شرایط بدون آب روغن‌ها، موجب افزایش پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی ترکیبات و در نتیجه افزایش جدا شدن هیدروژن از آنها و انتقال به رادیکال‌های آزاد شد. البته میزان غیراشباعیت و ترکیب اسید چربی روغن‌ها هم تاثیر بسزایی در پایداری اکسایشی آنها تحت تاثیر آنتی اکسیدانها داشت. روغن سویا با داشتن ساختار غیراشباع‌تر در مقایسه با روغن زیتون پایداری اکسایشی کمتری نشان داده و کارایی آنتی اکسیدان‌ها در آن کمتر از روغن زیتون بود.

رادیکال‌های تولید شده در فاز آبی امولسیون جلوگیری کند. این در حالی که در روغن‌ها (Bulk oils)، اسید آلفارزورسیلیک در کل روغن پخش شده و قادر نخواهد بود با تجمع در سطح روغن-هوا از روغن در برابر اکسایش محافظت کند.

نتیجه‌گیری

تاثیر ساختمان مولکولی ترکیبات بر فعالیت آنتی اکسیدانی اسیدهای جنتیسیک و آلفارزورسیلیک در محیط‌های متفاوت در این پژوهش، مورد بررسی قرار داده شد. موقعیت قرارگیری گروه‌های کشنده الکترون در حلقه فنلی آنتی اکسیدان‌ها، پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی و بین مولکولی این ترکیبات تحت تاثیر محیط مورد استفاده تاثیر بسزایی در میزان فعالیت آنتی رادیکالی ترکیبات مورد آزمون داشت.

اسید جنتیسیک در سه محیط آزمون متانولی، روغن‌ها و امولسیون‌ها فعالیت آنتی رادیکالی بسیار بالاتری نسبت به اسید آلفارزورسیلیک نشان داد. قرارگیری گروه عاملی هیدروکسیل در موقعیت اورتو حلقه فنلی اسید جنتیسیک، عامل افزایش ایجاد پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی و به تبع آن سهولت انتقال هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر این ترکیب نسبت به اسید آلفارزورسیلیک اسید با ساختار متا تشخیص داده شد.

از سوی دیگر این آرایش ساختمانی، خاصیت آبدوستتری به اسید

منابع

- Akoh, C. C., Min, D. B., 2002, Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. Marcel Dekker, New York, pp 432-427.
- Ali, HM. Abo-Shady, A., Sharaf Eldeen, HA. Soror, HA. Shousha, WG. Abdel-Barry, OA. & Saleh, AM., 2013, Structural features, kinetics and SAR study of radical scavenging and antioxidant activities of phenolic and anilinic compounds. *Chem Cent J*, 7(1), 53.
- Ashidate, K., Kawamura, M., Mimura, D., Tohda, H., Miyazaki, S., Teramoto, T., Yamamoto, Y., & Hirata, Y., 2005, Gentisic acid, an aspirin metabolite, inhibits oxidation of low-density lipoprotein and the formation of cholesterol ester hydroperoxides in human plasma. *Eur J Pharmacol*, 513(3), 173-179.
- Billaud, C., Lecornu, D. & Nicolas, J., 1996, Substrates and Carboxylic Acid Inhibitors of a Partially Purified Polyphenol Oxidase from Gum Arabic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1668-1675.
- Biskup, I., Golonka, I., Gamian, A. & Sroka, Z., 2013, Antioxidant activity of selected phenols estimated by ABTS and FRAP methods. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 67, 958-963.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C., 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Cheng, Z., Ren, J., Li, Y., Chang, W. & Chen, Z., 2003, Establishment of a quantitative structure-activity relationship model for evaluating and predicting the protective potentials of phenolic antioxidants on lipid peroxidation. *J Pharm Sci*, 92(3), 475-484.
- Farhoosh, R. & Hoseini-Yazdi, S. Z., 2013. Shelf-life prediction of olive oils using empirical models developed at low and high temperatures. *Food Chemistry*, 141(1), 557-565.

- Farhoosh, R., Johnny, S., Asnaashari, M., Molaahmadibahraseman, N. & Sharif, A., 2016, Structure-antioxidant activity relationships of o-hydroxyl, o-methoxy, and alkyl ester derivatives of p-hydroxybenzoic acid. *Food Chem*, 194, 128-134.
- Gordon, M. H., Paiva-Martins, F. & Almeida, M., 2001, Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *J Agric Food Chem*, 49(5), 2480-2485.
- Griffiths, L. A., 1959, On the Distribution of Gentisic Acid in Green Plants. *Journal of Experimental Botany*, 10(3), 437-442.
- Herrmann, K., 1989, Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 28(4), 315-347.
- Kawabata, J., Okamoto, Y., Kodama, A., Makimoto, T. & Kasai, T., 2002, Oxidative dimers produced from protocatechuic and gallic esters in the DPPH radical scavenging reaction. *J Agric Food Chem*, 50(19), 5468-5471.
- Lima, C. F., Fernandes-Ferreira, M. & Pereira-Wilson, C., 2006, Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: Relevance of glutathione levels. *Life Sciences*, 79(21), 2056-2068.
- Lingnert, H., Vallentin, K. & Eriksson, C. E., 1979, Measurement of antioxidative effect in model system. *Journal of Food Processing and Preservation*, 3(2), 87-103.
- Marinova, E. M. & Yanishlieva, N. V., 2003, Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. *Food Chemistry*, 81(2), 189-197.
- Middleton, E., Jr., Kandaswami, C. & Theoharides, T. C., 2000, the effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev*, 52(4), 673-751.
- Perez-Gonzalez, A., Galano, A. & Alvarez-Idaboy, J. R., 2014, Dihydroxybenzoic acids as free radical scavengers: mechanisms, kinetics, and trends in activity. *New Journal of Chemistry*, 38(6), 2639-2652.
- Réblová, Z., 2012, Effect of temperature on the antioxidant activity of phenolic acids. *Czech J Food Sci*, 30(2), 171-177.
- Sakas, M. B., Pericin, D. M., Mandic, A. I. & Kormanjos, s. M., 2004, Antioxidant properties of ethanolic extract of sugar beet pulp. *Acta Periodica Technologica*, 35, 1-280.
- Schaich, K. M., Shahidi, F., Zhong, Y. & Eskin, N. A. M., 2013, Chapter 11- Lipid Oxidation In Biochemistry of Foods (Third Edition). Academic Press, San Diego, pp 419-478.
- Schwarz, K., Huang, S. W., German, J. B., Tiersch, B., Hartmann, J. & Frankel, E. N., 2000, Activities of antioxidants are affected by colloidal properties of Oil-in-Water and Water-in-Oil emulsions and bulk Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4874-4882.
- Shahidi, F. & Wanasundara, P. K., 1992, Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 32(1), 67-103.
- Shahidi, F. & Naczki, M., 2003, Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC Press, Boca Raton London New York Washington, D.C.
- Shahidi, F. & Zhong, Y., 2015, Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, Part B, 757-781.
- Shantha, N. C. & Decker, E. A., 1994, Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *JAOAC Int*, 77(2), 421-424.
- Sroka, Z. & Cisowski, W., 2003, Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41(6), 753-758.
- Verpoorte, R., Contin, A. & Memelink, J., 2002, Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews*, 1(1), 13-25.
- Yanishlieva, N. & Marinova, E. M., 1995, Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. *Food Chemistry*, 54(4), 377-382.
- Yoshida, H., Kondo, I. & Kajimoto, G., 1992, Participation of free fatty acids in the oxidation of purified soybean oil during microwave heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69(11), 1136-1140.
- Zhang, J., Wang, S., Guo, Y., Xu, D., Li, X. & Tang, X., 2013, Co-Oxidation Effects of Methanol on Acetic Acid and Phenol in Supercritical Water. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52(31), 10609-10618.
- Zhong, Y. & Shahidi, F., 2012, Antioxidant Behavior in Bulk Oil: Limitations of Polar Paradox Theory. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(1), 4-6



Antioxidant Activity of Gentisic and Alpha-resorcylic Acids in Bulk Oils and Emulsions

A. Mardani¹, R. Frhoosh^{2*}, A. Sharif³

Received: 2017.07.18

Accepted: 2018.07.07

Introduction: Hydroxybenzoic acids are a large family of phenolic acids capable of inhibiting one of the most destructive reactions called lipid oxidation. Their antioxidant activities are markedly influenced by the number and position of phenolic OH groups. Increasing the number of electron-donating groups in the molecule and their placement at the *ortho* and/or *para* positions of the phenolic ring, could lead to the increased ability of H atom abstraction or electron donating capacity. Gentisic (3,5-dihydroxybenzoic acid) and Alpha-resorcylic (2,5-dihydroxybenzoic acid) acids are dihydroxybenzoic acids widely dispersed in the plant tissues with some valuable biological and pharmacological properties for human health. These compounds are different in structure and position of hydroxyl groups in phenolic ring, that may had a strong influence on their antioxidant properties. In addition of structural property, environmental interference can play an important role in the antioxidant potency. Antioxidants are found to behave differently when used in different media.

Materials and methods: Partition coefficient (log P) of Gentisic acid and Alpha-resorcylic acid was measured between 1-octanol and acetate buffers. Antiradical and antioxidant activity of compounds was investigated in different medium (solvent system, purified bulk olive and soybean oils and their O/W emulsions). DPPH radical scavenging activity of gentisic acid and alpha-resorcylic acid was measured in the methanolic solvent. Progress of lipid oxidation in olive oil and soybean oil containing 200 ppm of the antioxidants at 80 °C was followed by monitoring the changes in peroxide value (PV). PV was measured spectrophotometrically at 500 nm using a UV-Vis instrument. Oxygen depletion in emulsion systems in the absence and present of the antioxidant (200 ppm) was measured using a YSI Model 5300A biological oxygen monitor at 37°C. The effectiveness of the antioxidants in bulk oils and emulsions was estimated on the basis of the induction period (IP).

Results and discussion: The obtained results indicated that the effectiveness of the Gentisic and α -resorcylic acids in free radicals scavenging, was greatly affected by molecular structure of these antioxidants and environmental conditions.

Ortho position of hydroxyl group with respect to the carboxyl group in Gentisic acid, caused higher antiradical potency of Gentisic acid than α -resorcylic acid, with meta-structure, in different used mediums.

In addition, it was found that the environment plays an important role in the free radical scavenging activity of phenolic compounds. Gentisic acid with more hydrophilic structure showed better antioxidant activity in bulk oil hydrophobic systems, than emulsion systems, while α -resorcylic acid with less hydrophilic structure showed better activity in O/W emulsions. Both antioxidants showed low antioxidant performance in solvent system. The polar medium of the methanol used in DPPH assay, with enhanced intermolecular hydrogen bonds, decreased the radical scavenging potency of antioxidants.

Keywords: Gentisic acid, Alpha-resorcylic acid, vegetable oils, O/W emulsions

1, 2 and 3. PhD student, Professor and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
(Corresponding author: rfarhoosh@um.ac.ir)

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ناگت مرغ تولید شده با آرد دانه تاج خروس

مریم تام سن¹ - نفیسه سلطانی زاده^{2*} - هاجر شکرچی زاده²

تاریخ دریافت: 1396/05/02

تاریخ پذیرش: 1396/12/01

چکیده

ناگت مرغ محصولی است که آن را با پوشش سوخاری (لایه آرد، لعاب و آرد سوخاری) پوشانیده، پیش سرخ کرده و به صورت منجمد به بازار عرضه می کنند. هدف از تحقیق حاضر، جایگزینی آرد گندم با آرد تاج خروس به منظور کاهش وابستگی به غله گندم، بهبود ارزش تغذیه‌ای ناگت و همچنین امکان‌سنجی تولید محصولی جدید برای بیماران سلیاکی می باشد. بدین منظور در تولید ناگت مرغ، آرد تاج خروس به میزان صفر، 50 و 100 درصد در ناگت مرغ جایگزین آرد گندم گردید و سپس میزان ترکیبات شیمیایی، پایداری امولسیون، آزمون برش، میزان جذب روغن، تخلخل، افت پخت، رنگ و ویژگی‌های حسی مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین میزان pH و شدت اکسایش (شاخص تیوباربیتوریک اسید) نمونه‌ها طی 13 روز انبارداری در فواصل 4 روزه بررسی شد و در پایان نتایج در قالب دو طرح کاملاً تصادفی و کرت‌های خرد شده در زمان در سطح احتمال 95% آنالیز گردید. افزایش درصد جایگزینی سبب افزایش ارزش تغذیه‌ای ناگت گردید. ناگت‌های تولید شده با آرد تاج خروس از pH بالاتری برخوردار بوده و طی زمان، کاهش pH با سرعت کمتری در آنها روی داد. پایداری امولسیون نیز تحت تأثیر میزان جایگزینی قرار گرفت و در جایگزینی کامل به حداکثر مقدار خود رسید. همچنین با افزایش درصد تاج خروس در نمونه‌ها جذب روغن، میزان تخلخل، نیروی لازم برای برش و افت پخت به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0/05$). از نظر اکسایش نیز افزایش درصد جایگزینی موجب کاهش معنی‌دار میزان مالونالدئید در روزهای اول و کاهش روند اکسایش طی 13 روز انبارداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد گردید. آرد تاج خروس میزان روشنایی، قرمزی و زردی ناگت‌ها را به میزان قابل توجهی کاهش داد ($p < 0/05$) که در ارزیابی حسی اثر نامطلوبی بر پذیرش رنگ داشت. با این وجود، کلیه این ویژگی‌ها نتوانست بر پذیرش کلی این محصول از سوی مصرف‌کنندگان اثر معنی‌داری ایجاد نماید ($p > 0/05$).

واژه‌های کلیدی: آرد دانه تاج خروس، ناگت مرغ، جذب روغن، بافت سنجی.

مقدمه

دیگر خواص غذایی با گوشت قرمز برابری می کند و از اینرو برای اشخاصی که میزان کلسترول، تری گلیسیرید و اسید اوریک در خون آنها بالاست و دچار بیماری‌های قلبی-عروقی و یا نقرس هستند، مناسب تر از گوشت قرمز می باشد (Hubbard et al, 2000). ناگت مرغ یکی از فرآورده‌های گوشتی است که در میان مردم از محبوبیت خاصی برخوردار است. در تولید این محصول به منظور بهبود طعم، ظاهر و خصوصاً ویژگی‌های بافتی مطلوب و ایجاد سطح خارجی ترد و در عین حال هسته مرکزی نرم و مرطوب، ابتدا آن را با خمیر پوشانیده و سپس پیش سرخ کرده و به صورت منجمد به بازار عرضه می کنند. در تولید ناگت، آرد گندم سهم زیادی از افزودنی‌های موجود در آن را تشکیل می‌دهد (Mallikarjunan et al, 2009). گندم به عنوان یکی از محصولات اساسی کشاورزی دارای اهمیت ویژه ای بوده و تامین این محصول برای جوامعی مانند ایران که گندم جایگاه خاصی در الگوی تغذیه دارد، به معنی ایجاد امنیت غذایی است (شهبازیان و همکاران، 1386). یکی از راه‌های دستیابی به خودکفایی و عدم وابستگی به غله گندم، جایگزینی آن در محصولاتی

امروزه با توجه به تغییرات فرهنگی و اجتماعی، مصرف مواد غذایی آماده به‌ویژه غذاهای دریایی، مرغ و سبزیجات رو به افزایش است که در این میان مواد غذایی سرخ شده و سوخاری بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (Albert et al, 2009). با توجه به تقاضای رو به گسترش استفاده از غذاهای نیمه آماده که تقریباً در فرمولاسیون عمده آنها گوشت به عنوان یک جزء ضروری حضور دارد، نیاز به تولید محصولات سالم و کم‌چرب بیش از گذشته احساس می‌شود. گوشت مرغ یکی از انواع گوشت سفید است که در مقایسه با گوشت قرمز، چربی و آهن کمتری دارد ولی از نظر تأمین پروتئین مورد نیاز بدن و

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

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

تردی را داشته و پس از آن بیسکوئیت های حاوی کینوا و تاج خروس به ترتیب دارای تردی کمتری بودند (Schoenlechner et al, 2006). Sanz-Penella و همکاران (2013) با جایگزینی مقادیر مختلفی از آرد تاج خروس با آرد گندم در تولید نان دریافتند که به طور قابل توجهی محتوای پروتئین، چربی، خاکستر، فیبر رژیم غذایی و مواد معدنی افزایش می یابد.

با توجه به ارزش تغذیه ای و حضور ترکیبات فنولیک در دانه تاج خروس، یکی از مواد غذایی که می توان از فواید آرد این شبه غله در آن سود برد، ناگت مرغ می باشد. از اینرو در این تحقیق، حذف یا کاهش آرد گندم در ناگت مرغ و بهبود میزان ترکیبات مغذی از جمله فیبر، پروتئین و املاح با استفاده از آرد تاج خروس و همچنین افزایش عمر ماندگاری ناگت مرغ از طریق کاهش اکسایش چربی ها به دلیل حضور ترکیبات فنولیک در دانه تاج خروس مورد توجه قرار گرفت.

مواد و روش ها

تهیه آرد تاج خروس

حدود 10 کیلوگرم دانه تاج خروس از یکی از فروشگاه های گیاهان دارویی واقع در شهر اصفهان تهیه گردید و با استفاده از آسیاب برقی (مولینکس مدل AR100161، فرانسه) با توان 180 وات به مدت 10 دقیقه، آسیاب شد و با الک مش 60، الک گردید.

تهیه خمیر ناگت و ناگت

تولید خمیر ناگت و ناگت مرغ در فصل زمستان سال 1394، در کارخانه پاپلس واقع در شهرک صنعتی سروش بادران اصفهان انجام شد. به منظور تولید ناگت، ابتدا مرغ های منجمد به مدت یک شب در دمای 4 درجه سانتی گراد قرار گرفت. گوشت مرغ پس از جداسازی از استخوان با چرخ گوشت اتوماتیک تمام استیل (GHA، مدل Universal، فرانسه) و با پنجره مشبک با قطر سوراخ های 42 میلی متری خرد شد و سپس با پروتئین سویا مخلوط گردید. اختلاط ترکیبات چرخ شده در مخلوط کن های پدالی (فرقا مدل 110، ایران)، انجام گرفت و سایر ترکیبات نظیر پودر سیر، پیاز چرخ شده، ادویه جات و غیره به نسبت های تعیین شده در فرمولاسیون، به خمیر اضافه شدند (جدول 1). همچنین آرد گندم به میزان 4 درصد در این بخش اضافه و مخلوط شد. در پایان این مرحله، خمیر تهیه شده، خمیر ناگت نامیده می شود.

خمیر ناگت تهیه شده به روش بالا، به صورت ماشینی و توسط دستگاه اتوماتیک (VM400HS CFS، هلند)، قالب زنی شده و به وسیله ماشین های پوشش دهنده شامل آرد زن (CFS مدل OPA، هلند)، لعاب زن (CFS مدل ER400 HD، هلند) و سوخاری زن (CFS مدل PU400، هلند) به ترتیب آرد گندم (3-2 درصد وزن

است که حضور آرد گندم در آنها ضروری نمی باشد. تاکنون تحقیقات زیادی به منظور بهبود ویژگی های ناگت مرغ با به کارگیری انواع مختلف آرد انجام شده است. Burge و همکاران (1990) مقادیر مختلف آرد ذرت را به لایه خمیر افزودند و بررسی ها حاکی از آن بود که سطوح بالاتری از آرد ذرت در این لایه موجب افزایش تردی و کاهش میزان پف کردن در خمیر شد که به دلیل حفظ رطوبت کمتر در پوشش بود. Shih و همکاران (1999) دریافتند که افزودن آرد برنج در لایه لعاب در مقایسه با آرد گندم موجب کاهش 69 درصدی جذب روغن می شود. آرد برنج منجر به شکل گیری پوسته خشن در پوشش گردید اما نقش قوام دهنده کمی کمتری نسبت به آرد گندم داشت. هرچند زمانی که آرد برنج پیش ژلاتینه شده در لایه لعاب استفاده شد، به دلیل ماهیت متخلخل خود، جذب روغن در ناگت را افزایش داد (Dogan, (Mohamed et al, 1998) و همکاران (2004) آرد سویا را به لایه لعاب حاوی آرد گندم و ذرت افزودند که موجب افزایش تردی، بهبود رنگ و کاهش درصد روغن جذب شده در ناگت مرغ شد.

از سوی دیگر یکی از مشکلاتی که برخی از افراد جامعه با آن دست به گریبان هستند، بیماری سلیاک می باشد (Maliluan et al, 2013). این دسته از افراد باید از مصرف گندم و سایر غلات دارای گلوتن خودداری نمایند و شبه غلات یکی از مواد غذایی مناسب برای این دسته از افراد می باشند.

تاج خروس (*Amaranthus*) شبه غله ای از تیره *آمارانتاسه* (*Amaranthaceae*) است که دارای 60 گونه متفاوت می باشد (Olufolaji et al, 1980). این شبه غله حاوی میزان بالایی پروتئین (16/5 درصد)، نشاسته (61/4 درصد)، آمینو اسیدهای ضروری، چربی های غیر اشباع (5/7 درصد)، فیبر (20/6 درصد)، ویتامین B2، E، و C، املاح (کلسیم، منیزیم، روی و آهن) و ترکیبات فنولیک است. این گیاه از نظر تغذیه ای دارای ارزش بیولوژیکی بالایی است و با داشتن حدود 6 درصد اسکوالن، خاصیت ضد سرطانی دارد و با کاهش کلسترول، خطر سکت قلبی و بیماری های قلبی - عروقی را کاهش می دهد (Belton et al, 2002, Tosi et al, 2001). تحقیقات نشان داده است دانه تاج خروس به طور مؤثری موجب کاهش سطح گلوکز سرم و افزایش سطح انسولین سرم در موش صحرایی دیابتی می شود که نشان می دهد دانه تاج خروس می تواند در اصلاح هایپر گلاسمی و جلوگیری از عوارض دیابت مفید واقع شود (Kim et al, 2006). تاج خروس همچنین فاقد گلوتن بوده و برای بیماران سلیاکی که از غلاتی مانند گندم، جو و غیره نمی توانند استفاده کنند، جایگزین مناسبی است (Belton et al, 2002). لذا بررسی هایی در زمینه جایگزینی آرد گندم با آرد تاج خروس در مواد غذایی مختلف انجام شده است. محققان تلاش نمودند تا درصدهای مختلف تاج خروس را به همراه کینوا و چاودار برای تولید بیسکوئیت فاقد گلوتن استفاده نمایند. نتایج نشان داد که بیسکوئیت تهیه شده از چاودار بیشترین

آزمایش به همراه امولسیون باقی مانده توزین شد (w_2). با استفاده از فرمول زیر پایداری امولسیون محاسبه می‌شود (Baliga et al, 1970):

$$(1) \quad 100 \times (\text{وزن اولیه نمونه} / (w_1 - w_2)) - 1 = \text{پایداری}$$

آزمون برش

بررسی آزمون برش در دستگاه سنجش بافت (Instron، آمریکا) در دمای 25 درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. ابتدا نمونه‌ای با قطر 1/5 و ضخامت 1 سانتی‌متر از هر نمونه ناگت تهیه شد و سپس با سرعت 1/66 میلی‌متر در ثانیه و با استفاده از سل بارگذار 500 گرم تا 5 کیلوگرم، نمونه با استفاده از تیغه‌ای به ضخامت 1 میلی‌متر بریده شده و حداکثر نیروی لازم برای برش ثبت گردید (Fernandez-Lopez et al, 2006).

اندازه‌گیری جذب روغن

میزان جذب روغن نمونه‌ها پس از اندازه‌گیری روغن در نمونه‌های ناگت خام و سرخ شده به روش AOAC (991/39)، با کسر مقدار چربی قبل و بعد از سرخ کردن محاسبه شد (AOAC, 1975).

اندازه‌گیری تخلخل

تخلخل نمونه‌ها پس از اسکن ناگت و با استفاده از نرم‌افزار Image J Launcher 8-bit(256)color مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. قسمت مشخصی از نمونه‌ها با استفاده از این نرم‌افزار انتخاب شد و میزان تخلخل با کمک ابزار آنالیز به دست آمد (Castleman, 1996).

افت پخت ناگت مرغ

نمونه‌های ناگت قبل و بعد از سرخ شدن (دمای 160 درجه سانتی‌گراد به مدت 104 ثانیه) توزین و درصد افت پخت با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید (Baliga et al, 1970).

$$(2) \quad 100 \times (\text{وزن ناگت سرخ شده} - \text{وزن ناگت خام}) = \text{افت پخت}$$

اندازه‌گیری میزان اکسایش

میزان اکسایش طی 13 روز انبارداری در 4 درجه سانتی‌گراد و با فواصل نمونه‌برداری چهار روزه اندازه‌گیری شد. بدین منظور از روش تیوباریتوریک اسید (TBA) استفاده شد. 10 گرم ناگت با 25 میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید 20% در محلول اسید فسفریک 2 مولار هموژن و سپس با 25 میلی‌لیتر آب مقطر همگن شد. این مخلوط توسط کاغذ صافی واتمن شماره 41 صاف شد. 5 میلی‌لیتر از عصاره

ناگت، لعاب متشکل از آرد گندم (14 درصد وزن لعاب) ادویه جات، نشاسته، تخم مرغ و آب و در نهایت آرد سوخاری با اندازه ذرات بین 250 تا 850 میکرومتر (تهیه شده از شرکت نان گستر) بر روی نمونه‌ها پاشیده شد. سرخ کردن نمونه‌ها با 3 ثانیه عبور از حمام روغن با دمای 180 درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. نمونه‌های تهیه شده به پایلوت گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل شده و تا زمان انجام آزمایشات در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور بررسی اثر جایگزینی آرد گندم با درصدهای مختلف آرد تاج خروس، مقادیر صفر، 50 و 100 درصد از آن در لایه‌های آرد، لعاب و خمیر ناگت، جایگزین آرد گندم شد.

جدول 1- فرمولاسیون خمیر ناگت

ترکیب	مقدار (درصد)
گوشت مرغ	90
نمک طعام تصفیه شده	1/6
آرد گندم	4
پیاز	1/3
ادویه	1
شیر خشک کم چرب	0/8
سویا	1/3

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی ناگت مرغ

ترکیبات شیمیایی ناگت شامل رطوبت، چربی، پروتئین، خاکستر و فیبر به روش AOAC به ترتیب به شماره‌های 930/15، 991/39، 991/20، 942/05 و 985/29 اندازه‌گیری شد (AOAC, 1975).

اندازه‌گیری pH ناگت مرغ

pH طی 13 روز انبارداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، با فواصل نمونه‌برداری چهار روزه، با استفاده از دستگاه pH متر دستی (OAKTON، مالزی) تعیین شد.

اندازه‌گیری پایداری امولسیون خمیر مرغ

به منظور بررسی اثر آرد تاج خروس بر پایداری امولسیون، خمیرهای ناگت پس از جایگزینی صفر، 50 و 100 درصد از آرد گندم با آرد تاج خروس در سه تکرار متفاوت آماده شده و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و در فاصله یک ساعت پس از تولید، آزمون پایداری امولسیون انجام گرفت. مقدار 3-5 گرم از امولسیون تهیه شده به لوله آزمایش منتقل شده و توزین گردید (w_1). این امولسیون در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه حرارت‌دهی شد. سپس لوله آزمایش بر روی یک کاغذ صافی وارونه گردید تا چربی جدا شده جذب کاغذ شود. پس از این مدت لوله

حاصل با 5 میلی لیتر TBA 0/01 مولار در محلول 90 درصد اسید استیک مخلوط شد و میزان جذب در طول موج 532 نانومتر قرائت گردید. میزان جذب در ضریب 5/4 ضرب گشته و میلی گرم مالون دی آلدهید/ کیلوگرم نمونه محاسبه شد (Baliga et al, 1970).

رنگ ناگت مرغ

رنگ سطح نمونه‌های ناگت با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج NIPPON DENSOKU مدل ZE6000 (ژاپن) اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی رنگ داخل نمونه‌های ناگت، پس از ایجاد برش قطری در نمونه‌های ناگت، پارامترهای رنگی این بخش از نمونه توسط این دستگاه به‌دست آمد و در نهایت میزان سفیدی با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید (Tabilo-Munizaga et al, 2004):

$$(3) \quad [L^*]^{0.5} = 100 - [(100 - \text{روشنایی})^2 + \text{زردی}^2 + \text{قرمزی}^2]^{0.5} = \text{سفیدی}$$

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه‌های ناگت به روش ارزیابی مصرف‌کننده انجام گردید. بدین منظور نمونه‌های ناگت پس از پخت در مایکروویو با توان 900 وات و به مدت یک دقیقه، بلافاصله در حالت گرم در اختیار ارزیاب‌های حسی آموزش دیده قرار گرفت. دمای محیط ارزیابی 20 درجه سانتی‌گراد بود و از نور سفید در آن استفاده شد. 30 ارزیاب زن و 30 ارزیاب مرد در رنج سنی 18 تا 29 سال از بین دانشجویان دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان انتخاب شدند. ارزیاب‌ها

به‌صورت تصادفی در سه گروه تقسیم‌بندی شدند به‌طوری که در هر گروه تعداد برابری از ارزیاب‌های حسی زن و مرد حضور داشته باشند. سپس اعضای هر گروه تنها یک نمونه را مورد ارزیابی قرار داده و نظر خود را در مورد بافت، عطر و طعم، رنگ و ارزیابی کلی براساس مقیاس‌های توصیفی هدونیک 7 نقطه‌ای (دوست داشتن زیاد=3، دوست داشتن متوسط=2، دوست داشتن کم=1، بی تفاوت=0، دوست نداشتن=1-، دوست نداشتن متوسط=2-، دوست نداشتن زیاد=3-) بیان نمودند (Killinger et al, 2004).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق از سه سطح جایگزینی صفر، 50 و 100 درصد آرد گندم با آرد تاج خروس در ناگت استفاده شد. کلیه تیمارها در سه تکرار تهیه گردید و مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون‌های pH و شدت اکسایش با کمک طرح کترهای خرد شده در قالب زمان و نتایج سایر آزمون‌ها از جمله ارزیابی حسی با مقایسه میانگین از طریق طرح کاملاً تصادفی در سطح اطمینان 95% مورد ارزیابی قرار گرفت. برای آنالیز نتایج از نرم‌افزار SAS نسخه 13 استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی ترکیبات شیمیایی ناگت‌های تهیه شده با درصد‌های مختلف آرد تاج خروس در جدول 2 آورده شده است.

جدول 2- ترکیبات شیمیایی ناگت‌های حاوی درصد‌های متفاوت تاج خروس

درصد جایگزینی	خاکستر (%)	رطوبت (%)	چربی (%)	پروتئین (N*5/85%)	فیبر (%)
0	3/56 ^c ±0/03	43/89 ^c ±0/07	26/66 ^c ±0/04	23/34 ^c ±0/02	0/45 ^c ±0/02
50	4/48 ^b ±0/05	44/64 ^b ±0/27	27/33 ^b ±0/02	23/59 ^b ±0/04	2/87 ^b ±0/01
100	5/05 ^a ±0/03	45/52 ^a ±0/17	28/53 ^a ±0/06	23/82 ^a ±0/02	3/46 ^a ±0/03

اعداد نشان‌دهنده میانگین ± SD می‌باشد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ستون است (p<0/05).

Different letters indicate significant differences in each column (p<0/05).

آرد تاج خروس از نظر پروتئین و فیبر غنی‌تر از آرد گندم بوده و حضور آن در محصول نهایی موجب افزایش درصد این دو ترکیب شد. باید توجه نمود که اگرچه ناگت مرغ به دلیل حضور مقادیر زیاد پروتئین در آن یک ماده غذایی بسیار مغذی محسوب می‌گردد؛ اما از نظر سایر ترکیبات غذایی فقیر محسوب می‌شود (Alencar et al., 2015). افزودن آرد تاج خروس با ویژگی‌های منحصر به فرد تغذیه‌ای توانست علاوه بر پروتئین، میزان فیبر و املاح معدنی موجود در نمونه‌های ناگت را به شدت افزایش داده و ارزش تغذیه‌ای این ناگت‌ها را ارتقا بخشد.

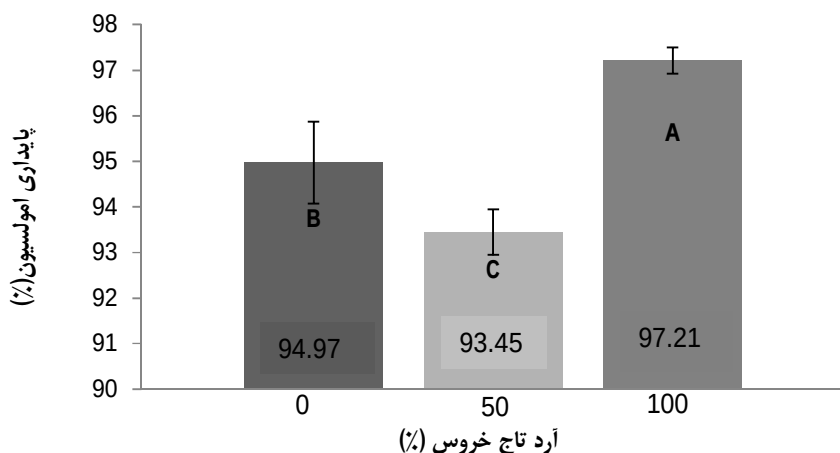
شکل 1 نشان‌دهنده پایداری امولسیون خمیرهای ناگت تهیه شده با درصد‌های مختلف جایگزینی آرد تاج خروس است. نتایج نشان داد

همانگونه که می‌توان مشاهده نمود، با افزایش درصد جایگزینی آرد تاج خروس در ناگت‌ها، تمامی ترکیبات شیمیایی با اختلاف معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش یافتند (p<0/05). وجود املاحی نظیر کلسیم، منیزیم و آهن در آرد تاج خروس توانست به‌طور معنی‌داری میزان خاکستر را در ناگت‌های حاوی آرد تاج خروس افزایش دهد. همچنین گرانول‌های کوچک نشاسته تاج خروس از جذب آب بالایی در مقایسه با نشاسته گندم برخوردار بوده که اثر قابل توجهی در میزان رطوبت نمونه‌های ناگت داشت.

با توجه به این که چربی آرد تاج خروس 2-3 برابر غلاتی نظیر گندم است و به دلیل افزایش جذب روغن در نمونه‌های حاوی آرد تاج خروس، چربی این نمونه‌ها بیشتر از نمونه شاهد بود. علاوه بر این،

یکی از ویژگی‌هایی که می‌تواند اثر قابل توجهی بر کیفیت و عمر ماندگاری محصولات گوشتی داشته باشد، pH است (Belton et al, 2002). در روز اول، pH نمونه دارای 100% آرد تاج خروس با اختلاف معنی‌داری بیشتر از سایر نمونه‌ها بود ($p < 0/05$; جدول 3). از آنجا که pH آرد تاج خروس به دلیل وجود آمینواسیدهای قلیایی (لایزین) بیشتر از آرد گندم است، با افزایش درصد آرد تاج خروس pH نمونه‌ها افزایش یافت (Belton et al., 2002). طی 13 روز انبارداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد شدت افت pH برای نمونه شاهد نسبت به نمونه دارای 100 درصد تاج خروس بیشتر بود که می‌تواند به دلیل رشد میکروارگانیسم‌ها و تولید اسید توسط آنها باشد. به‌نظر می‌رسد وجود مقادیر زیاد ترکیبات فنولیک در آرد تاج خروس توانسته است سرعت رشد میکروبی را در نمونه‌های حاوی این آرد کاهش دهد.

با جایگزینی 100% آرد تاج خروس در خمیر ناگت، بیشترین پایداری در امولسیون ایجاد شد که می‌تواند به دلیل وجود چربی‌های قطبی و نیز گلوبولین موجود در آرد تاج خروس باشد که از عوامل فعال سطحی بوده (Fidantsi et al, 2001, Sanz penella et al, 2013) و بر پایداری امولسیون می‌افزایند. نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که پروتئین‌های موجود در آرد تاج خروس از خاصیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون بالایی برخوردارند (Marcone et al, 1999, Silva-Sanchez et al, 2004). از سوی دیگر، جایگزین کردن 50 درصد آرد تاج خروس به‌جای آرد گندم، پایداری امولسیون را با اختلاف معنی‌داری کاهش داده و میزان آن را به کمتر از نمونه شاهد رساند که به‌نظر می‌رسد به دلیل درگیر شدن آلبومین در پیوند با گلوتن گندم می‌باشد (Sanz penella et al., 2013). در نتیجه این پیوند، پروتئین‌های محلول کاهش یافته که خود موجب کاهش فعالیت امولسیون کنندگی می‌شود.



شکل 1- پایداری امولسیون خمیر ناگت حاوی درصدهای مختلف آرد تاج خروس. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین درصدهای مختلف جایگزینی آرد تاج خروس است ($p < 0/05$).

جدول 3- pH ناگت حاوی آرد تاج خروس طی 13 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین درصدهای مختلف جایگزینی آرد تاج خروس است ($p < 0/05$).

درصد جایگزینی	pH			
	روز (1)	روز (5)	روز (9)	روز (13)
0	5/87 ^{BC} ±0/01	5/83 ^{DE} ±0/02	5/67 ^M ±0/01	5/70 ^{KLM} ±0/01
50	5/86 ^{CD} ±0/01	5/86 ^{CD} ±0/05	5/75 ^{HIJ} ±0/03	5/74 ^{HIJ} ±0/01
100	5/90 ^A ±0/02	5/86 ^C ±0/01	5/79 ^{FG} ±0/01	5/77 ^{GH} ±0/01

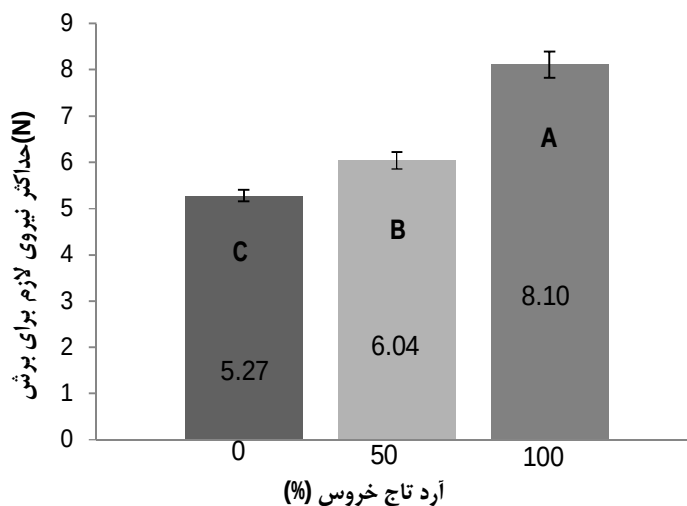
اعداد نشان دهنده میانگین $\pm$ SD می‌باشد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ستون است ($p < 0/05$). Different letters indicate significant differences in each column ($p < 0/05$).

آمینواسیدهای باردار لایزین، گلوتامینک و آسپارتیک است که در آرد تاج خروس یافت می‌شود (Belton et al, 2002). به‌نظر می‌رسد با پیوند این آمینواسیدها با فیبرهای عضلانی باردار گوشت، بر شدت

نتایج ارزیابی بافت نشان داد با افزایش درصد آرد تاج خروس جایگزین شده، مقدار نیروی لازم برای برش ناگت‌ها با اختلاف معنی‌دار افزایش می‌یابد ($p < 0/05$; شکل 2). این ویژگی به دلیل

بیش از نمونه شاهد و نمونه حاوی آرد برنج بود (Purcell et al, 2014). باید توجه نمود با اینکه آرد تنها سهم اندکی از ناگت مرغ را تشکیل می‌دهد؛ اما تغییر نوع آرد می‌تواند بر ویژگی‌های ناگت تولیدی به خصوص از نظر بافت تاثیر قابل توجهی بگذارد.

پیوندهای موجود در خمیر گوشت افزوده شده و سفتی آن و در نتیجه مقدار نیروی لازم برای برش افزایش می‌یابد. در تحقیقات قبلی که بر روی جایگزینی آرد گندم با سایر آردها در ناگت مرغ انجام شد، مشخص گردید با جایگزین کردن آرد ذرت و برنج با آرد گندم در تهیه ناگت مرغ، مقدار نیروی لازم برای برش در ناگت حاوی آرد ذرت



شکل 2- حداکثر نیروی لازم (نیوتن) برای برش نمونه‌های ناگت حاوی مقادیر مختلف جایگزینی آرد تاج خروس. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین درصد‌های مختلف جایگزینی آرد تاج خروس است ($p < 0/05$).

دلیل کم بودن مقدار آمیلوز نشاسته تاج خروس، این آرد از ویسکوزیته کمی به هنگام ژلاتینه شدن برخوردار است که می‌تواند موجب کاهش جذب لایه لعاب و سوخاری به خمیر مرغ شده و افت پخت را افزایش دهد.

بر اساس جدول 4، میزان مالونالدید در نمونه حاوی 100 درصد آرد تاج خروس در چند روز ابتدایی به طور معنی‌داری کمتر از سایر نمونه‌ها بود ($p < 0/05$) اما به تدریج، شدت اکسایش در نمونه‌های دارای تاج خروس نیز افزایش می‌یابد به طوری که پس از 13 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، تفاوت معنی‌داری بین آنها مشاهده نمی‌شود. باید توجه نمود که با وجود جذب روغن بیشتری که در تیمارهای حاوی آرد تاج خروس نسبت به نمونه شاهد وجود داشت اما آرد تاج خروس به خوبی توانست شدت اکسایش را در نمونه‌های ناگت کاهش دهد. به نظر می‌رسد ترکیبات فنولیک موجود در آرد تاج خروس در این زمینه مؤثر باشند.

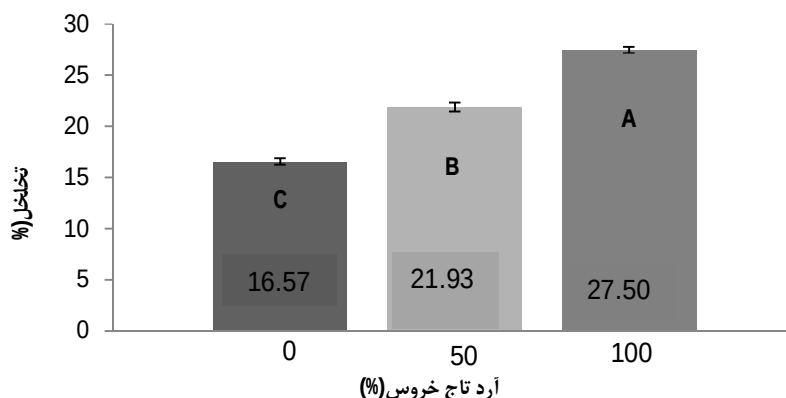
از آنجایی که آرد تاج خروس به دلیل رنگدانه بتاسیانین از رنگ بسیار تیره‌تری نسبت به آرد گندم برخوردار است، بررسی نقش این آرد در تغییر رنگ نمونه‌های ناگت حائز اهمیت است. همانگونه که در جدول 5 می‌توان مشاهده نمود، استفاده از آرد تاج خروس در ناگت، شدت روشنایی، قرمزی، زردی و سفیدی را در سطح و داخل نمونه‌ها کاهش داد ($p < 0/05$). بدیهی است که وجود رنگدانه‌های سیاه رنگ

بررسی میزان تخلخل نمونه‌های ناگت، رابطه مستقیمی را بین میزان آرد تاج خروس و این ویژگی نشان داد (شکل 3). در آرد تاج خروس حدود 20% گلبولین یافت می‌شود که خاصیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی دارد (Belton et al, 2002). این ویژگی با به دام انداختن حباب‌های هوا در ایجاد بافتی متخلخل مؤثر می‌باشد. Fidantsi (2001) نشان دادند گلوبولین موجود در تاج خروس از خاصیت ایجاد کف بالایی برخوردار است که می‌تواند هوا را در خود به دام انداخته و سبب ایجاد بافتی متخلخل به هنگام تولید خمیر گوشت شود.

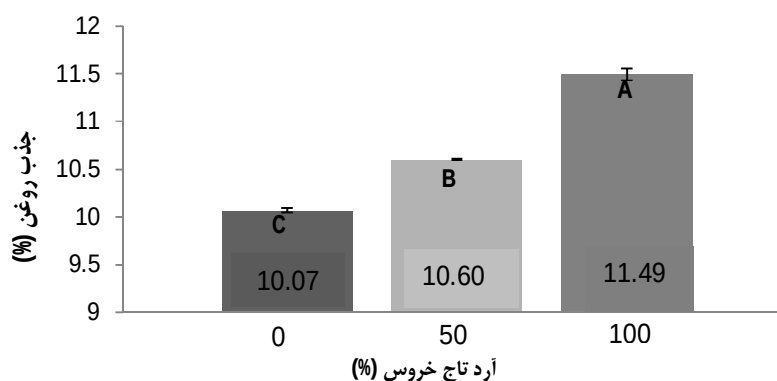
همچنین، با افزایش مقدار آرد تاج خروس، افزایش معنی‌داری در جذب روغن نمونه‌ها مشاهده شد (شکل 4) که به نظر می‌رسد به دلیل افزایش تخلخل در نمونه‌ها باشد. زیرا هرچه بافت تخلخل بیشتری داشته باشد روغن را به راحتی جذب می‌نماید (Mallikarjunan et al, 2009). همچنین آلبومین موجود در تاج خروس، جذب روغن بین 460 تا 464% دارد که موجب افزایش جذب روغن توسط ناگت‌ها می‌شود (Silva-Sanchez et al, 2004).

افت پخت به معنای کاهش وزن ناگت پس از سرخ شدن نسبت به نمونه خام است. همانگونه که در شکل 5 می‌توان مشاهده نمود، کمترین افت پخت مربوط به نمونه‌هایی است که در آن‌ها تنها از آرد استفاده شده است. Belton و همکاران (2002) بیان نمودند که به

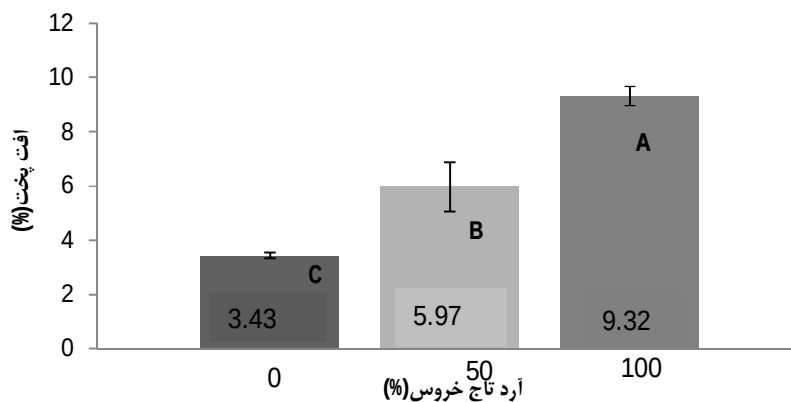
بتاسانین می‌تواند تاثیر نامطلوبی بر پارامترهای رنگ ناگت داشته باشد و از شدت سفیدی داخل نمونه‌های ناگت که از نظر پذیرش مصرف‌کننده بسیار مهم می‌باشد، بکاهد.



شکل 3- میزان تخلخل در ناگت‌های حاوی مقادیر مختلف آرد تاج خروس. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین درصدهای مختلف جایگزینی آرد تاج خروس است ($p < 0/05$).



شکل 4- جذب روغن ناگت‌های حاوی آرد تاج خروس. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین درصدهای مختلف جایگزینی آرد تاج خروس است ($p < 0/05$).



شکل 5- افت پخت نمونه‌های ناگت‌های تهیه شده با درصدهای مختلف جایگزینی آرد تاج خروس. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین درصدهای مختلف جایگزینی آرد تاج خروس است ($p < 0/05$).

جدول 4- اکسایش ناگت حاوی آرد تاج خروس طی 13 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی گراد.

میلی گرم مالونالدهید/کیلوگرم نمونه				درصد جایگزینی
روز (1)	روز (5)	روز (9)	روز (13)	
1/42 ^K ±0/01	2/64 ^A ±0/12	1/96 ^{GH} ±0/11	2/63 ^A ±0/01	0
1/23 ^L ±0/12	2/34 ^{DE} ±0/13	2/39 ^{CDE} ±0/05	2/37 ^{DE} ±0/01	50
0/99 ^M ±0/12	2/07 ^{FG} ±0/04	1/91 ^{HI} ±0/06	2/46 ^{BCD} ±0/04	100

اعداد نشان دهنده میانگین $\pm$ SD می باشد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در هر ستون است ($p < 0/05$).

جدول 5- رنگ ناگت های حاوی درصد های متفاوت تاج خروس

درصد آرد تاج خروس	روشنایی خارجی	قرمزی خارجی	زردی خارجی	سفیدی خارجی	روشنایی داخلی	قرمزی داخلی	زردی داخلی	سفیدی داخلی
0	47/02 ^a ±0/09	25/31 ^a ±0/28	42/36 ^a ±0/17	27/58 ^a ±0/03	64/57 ^a ±0/31	6/07 ^a ±0/18	17/55 ^a ±0/29	59/99 ^a ±0/43
50	42/14 ^b ±0/07	21/53 ^b ±0/30	37/79 ^b ±0/30	27/41 ^b ±0/03	55/66 ^b ±0/26	4/74 ^b ±0/24	12/84 ^b ±0/31	53/59 ^b ±0/19
100	39/31 ^c ±0/28	21/16 ^b ±0/13	33/57 ^c ±0/25	27/38 ^b ±0/01	50/79 ^c ±0/28	3/93 ^c ±0/06	10/18 ^c ±0/34	49/59 ^c ±0/33

اعداد نشان دهنده میانگین $\pm$ SD می باشد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در هر ستون است ($p < 0/05$).

مصرف کنندگان را نسبت به این ماده غذایی کاهش می دهد (Belton *et al*, 2002). با این وجود نتایج پذیرش کلی نشان داد، اگرچه مصرف کنندگان ارجحیتی برای این نمونه های ناگت قائل نیستند؛ اما این ناگت ها از نظر آن ها ناپسند نیز نمی باشند.

در پایان نتایج ارزیابی حسی (جدول 5) تفاوت معنی داری را از نظر عطر و طعم، بافت و ارزیابی کلی ایجاد نکرد؛ اما اختلاف رنگ با نمونه شاهد به اندازه ای بود که نتوانست مورد پذیرش مصرف کنندگان قرار بگیرد. حضور رنگدانه های بتاسیانین در آرد تاج خروس مورد استفاده برای تهیه ناگت، موجب افزایش تیرگی رنگ شده و پذیرش

جدول 5- ارزیابی حسی ناگت های حاوی درصد های متفاوت تاج خروس

درصد آرد تاج خروس	عطر و طعم	بافت	رنگ	پذیرش کلی
0	^a 1/70	^a 1/40	^a 2/00	^a 1/55
50	^a 2/05	^a 1/60	1/05 ^b	^a 2/05
100	^a 1/80	^a 1/40	0/75 ^b	^a 1/75

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در هر ستون است ($p < 0/05$).

اثر نامطلوبی بر ناگت های تولیدی داشت اما با توجه به ارزش تغذیه ای بالای تاج خروس، نیاز شدید بیماران سلیاکی به مواد غذایی فاقد آرد گندم و در نهایت، پذیرش این محصول از سوی مصرف کنندگان می توان تولید این محصول را ارزشمند دانست.

نتایج این تحقیق نشان داد جایگزینی آرد گندم با آرد تاج خروس در تولید ناگت اگرچه نتوانست ویژگی های ناگت را همانند نمونه های حاوی آرد گندم حفظ نماید و در مواردی از جمله رنگ و جذب روغن

نتیجه گیری

منابع

- شهبازیان، ن.، ا. ا. دادی و ب. کامکار، 1386. معرفی گیاه آمارانت و کینوا جهت پایدار سازی اراضی حاشیه ای در ایران، دومین همایش ملی کشاورزی بوم شناختی ایران، گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
- Albert, Á., P. Varela, A. Salvador and S. M. Fiszman. 2009. Improvement of crunchiness of battered fish nuggets. *Eur. Food Res. Technol.* 228:923-930.
- Alencar, N. M. M., C. J. Steel, I. D. Alvim, E. C. de Moraes, and H. M. A. Bolini. 2015. Addition of quinoa and amaranth flour in gluten-free breads: Temporal profile and instrumental analysis. *Food Sci. Technol.* 62:1011-1018.
- AOAC. 1975. "Official Methods of Analysis." 12 ed., p. 395, 15, 135. 137. 222. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Baliga, B. and N. Madaiah. 1970. Quality of sausage emulsion prepared from mutton. *J. Food Sci.* 35:383-385.

- Belton, P. S. and J. R. Taylor. 2002. Pseudocereals and Less Common Cereals: Grain Properties and Utilization Potential. *Springer Science & Business Media*, Berlin.
- Burge, R. 1990. Functionality of corn in food coatings. PP. 29-49. In: K. Kulp and R. Loewe (Eds.), *Batters and Breadings in Food Processing*, *Association of Cereal Chemists, Inc.*, Minnesota.
- Castleman, K. 1996. *Digital Image Processing*. Englewood Cliffs: Prentice Hall.
- Dogan, S. F., S. Sahin and G. Sumnu. 2005. Effects of soy and rice flour addition on batter rheology and quality of deep-fat fried chicken nuggets. *J. Food Eng.* 71:127-132.
- Fernández-López, J., S. Jiménez, E. Sayas-Barberá, E. Sendra and J. Pérez-Alvarez. 2006. Quality characteristics of ostrich (*Struthio camelus*) burgers. *Meat Sci.* 73:295-303.
- Fidantsi, A. and G. Doxastakis. 2001. Emulsifying and foaming properties of amaranth seed protein isolates. *Colloids Surf., A.* 21:119-124.
- Hubbard, L. J. and B. E. Farkas. 2000. Influence of oil temperature on convective heat transfer during immersion frying. *J. Food Process. Preserv.* 24:143-162.
- Killinger, KM. Calkins, Chris R. Umberger, Wendy Jeanne. Feuz, Dillon M. Eskridge, Kent M. 2004. Consumer sensory acceptance and value for beef steaks of similar tenderness, but differing in marbling level. *Journal of Animal Science.* 82: 11: 3294-3301.
- Kim, H. K., M. J. Kim, H. Y. Cho, E. K. Kim and D. H. Shin. 2006. Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem. Funct.* 24:195-199.
- Maliluan, C., Y. B. Pramono and B. Dwiloka. 2013. Physical and sensory characteristics of chicken nuggets with utilization rice bran to substitute wheat flour. *JATP.* 2: 71-74
- Mallikarjunan, P., M. O. Ngadi and M. S. Chinnan. 2009. *Breaded Fried Foods*. CRC Press, New York.
- Marcone, M. and Y. Kakuda. 1999. A comparative study of the functional properties of amaranth and soybean globulin isolates. *Nahrung.* 43:368-373.
- Mohamed, S., N. A. Hamid and M. A. Hamid. 1998. Food components affecting the oil absorption and crispness of fried batter. *J. Sci. Food Agric.* 78:39-45.
- Olufolaji, A. O. and T. Tayo. 1980. Growth, development and mineral contents of three cultivars of amaranth. *Sci. Hort.* 13:181-189.
- Purcell, S., Y. J. Wang and H. S. Seo. 2014. Enzyme-Modified Starch as an Oil Delivery System for Bake-Only Chicken Nuggets. *J. Food Sci.* 79:C802-C809.
- Sanz-Penella, J. M., M. Wronkowska, M. Soral-Smietana and M. Haros. 2013. Effect of whole amaranth flour on bread properties and nutritive value. *LWT-Food Sci. Technol.* 50:679-685.
- Schoenlechner, R., G. Linsberger, L. Kaczyc and E. Berghofer. 2006. Production of short dough biscuits from the pseudocereals amaranth, quinoa and buckwheat with common bean. *Ernahrung.* 30:101-107.
- Shih, F. and K. Daigle. 1999. Oil uptake properties of fried batters from rice flour. *J. Agric. Food Chem.* 47:1611-1615.
- Silva-Sánchez, C., J. González-Castañeda, A. De León-Rodríguez and A. B. de la Rosa. 2004. Functional and rheological properties of amaranth albumins extracted from two Mexican varieties. *Plant Foods Hum. Nutr.* 59:169-174.
- Tabilo-Munizaga, Gipsy Barbosa-Cánovas, Gustavo V. 2004. Color and textural parameters of pressurized and heat-treated surimi gels as affected by potato starch and egg white. *Food Research International.* 37: 8: 767-775.
- Tosi, E., E. Ré, H. Lucero and R. Masciarelli. 2001. Dietary fiber obtained from amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain by differential milling. *Food Chem.* 73:441-443.



Evaluation of physicochemical properties of chicken nugget produced with amaranth seed flour

M. Tamsen¹, N. Soltanizadeh^{2*}, H. Shekarchizadeh²

Received: 2017.07.24

Accepted: 2018.02.20

Introduction: The main part of the further-processed foods especially fish, seafood, poultry, cheese and vegetables market is constituted of battered and breaded products. The annual consumption of battered and breaded products in some countries such as Europe, Japan, and Oceania is approximately 2 billion pounds. Frying of battered and breaded products is used to improve their quality factors which are mainly crispness, texture, moisture and oil contents, porosity, color and appearance, flavor and nutrition. Crispy outer layer and the moist and juicy interior as pleasant textural characteristics are created in fried foods. Chicken nugget which is made from chicken meat is breaded or battered, then deep-fried or baked and finally is quick frozen. Chicken nugget is composed of four layers including paste, pre-dust, batter and breaded layers. Amaranth is one of the pseudo-cereal grains which belongs to the *Amaranthaceae* family. The color of amaranth seed varies from milky white to yellow, golden, red, brown, and black. This plant has high nutritional and biological value. Amaranth seed contains starch (61/4%), protein (16/5%), unsaturated fats (5/7%), fiber (20/6%), vitamins (E, B2 and C), minerals (calcium, magnesium, zinc and iron) and phenolic compounds. The purpose of this study was to replace wheat flour with amaranth flour in order to reduce wheat grain dependence, improve the nutritional value of nuggets as well as explore the production possibility of a new product for celiac disease.

Materials and methods: In order to investigate the effect of replacing of wheat flour by amaranth flour in nugget formulation, amaranth flour was used at 0, 50 and 100% levels separately in chicken paste, batter dough, and all layers of nugget (chicken paste, predust, and batter dough). Then, the chemical composition and pH of chicken nugget, chicken paste emulsion stability, cutting force, oil absorption, porosity, cooking loss, degree of oxidation, color and sensory characteristics of produced nuggets were evaluated.

Results and discussion: Results showed that increasing the substitution percent would increase the nutritional value of nuggets. The pH of all produced nuggets containing amaranth flour was higher than the control sample and pH reduction occurred slower in them during 13 days of storage at 4 ° C. Emulsion stability was also affected by the replacement rate and reached the maximum content at full replacement. Samples with 100% incorporation of amaranth flour had the highest emulsion stability due to the presence of polar lipids and globulin in amaranth flour which are surface active agents. However, 50% substitution of wheat flour with amaranth flour in chicken paste significantly decreased emulsion stability as this sample had the lowest emulsion stability. It seems that the interaction of amaranth albumin proteins with wheat gluten proteins reduced soluble proteins, which caused emulsion stability reduction of chicken paste containing both amaranth flour and wheat flour. Also the presence of amaranth flour in nuggets significantly increased oil absorption, porosity, cutting force and cooking loss. Oil absorption of nuggets increased by increasing the amount of amaranth used in nugget production, as the control nuggets had the lowest oil absorption. Albumin proteins which are present in amaranth flour have high oil absorption capacity. Amaranth flour has low viscosity in gelatinization owing to the low amylose content of amaranth starch, which decreases the absorption of batter dough to the chicken paste and as a result cooking loss will increase. Porosity of nuggets increased by increasing the amount of amaranth flour in prepared nuggets. Globulin which constitutes about 20% of amaranth proteins is a good foaming agent. Entrapment of air bubbles by globulin caused porosity increase in nuggets. In addition, the results of moisture content of nuggets showed moisture removal of nuggets containing amaranth flour after frying. Steam pressure of evaporated water caused porous tissue in samples. Hardness, chewiness, gumminess, springiness, and cohesiveness of nuggets containing amaranth flour increased. The cutting force was increased significantly as a result of the amount of amaranth flour of nuggets as was expected. About the oxidation, increasing the substitution rate reduced the amount of malonaldehyde in the early days and reduced the oxidation process in 13 days of storage at 4 ° C. High amounts of phenolic compounds were found in amaranth flour, which could

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: Soltanizadeh@cc.iut.ac.ir)

reduce lipid oxidation and spoilage of nugget. Amaranth flour darkened nuggets and by increasing amaranth content, that amount of L (brightness), a (redness) and b (yellowness) declined. Lightness of the outer layer of nuggets decreased by increasing the amaranth amount of nugget, due to the presence of bran and betacyanin pigment in amaranth flour which make it darker than white flour. Wheat flour could be substituted with amaranth flour in nugget production, increasing the nutritional value of product by increasing protein, fiber and minerals levels, with no undesirable effect on total acceptance of consumers.

Key words: Amaranth seed flour, Chicken nugget, Oil absorption, Texture analysis



سینتیک نفوذ ترکیبات فنولی پسماند انگور در ژل آلوه ورا حین آگیری اسمزی

الهام آذرپژوه^{1*} - پروین شرایعی² - فرزاد غیبی³

تاریخ دریافت: 1396/06/28

تاریخ پذیرش: 1396/11/04

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی سینتیک نفوذ ترکیبات عملگرایی فنولی موجود در پسماند انگور (آرگول) در ژل آلوه ورا انجام شد. برشهای استوانه‌ای ژل آلوه ورا در محلول اسمزی با غلظت‌های مختلف ساکارز (40، 50 و 60 درصد) و آرگول (10، 20 و 30 درصد) در دمای ثابت 50 درجه سلسیوس به مدت 30، 60، 90 و 120 دقیقه غوطه‌ور شدند. نسبت میوه به محلول اسمزی 1 به 4 (وزنی/حجمی) در نظر گرفته شد. سینتیک انتقال جرم و پیش‌بینی مقادیر تعادلی از دست دادن آب و جذب مواد جامد با استفاده از مدل دو پارامتری آروارا تعیین گردیدند. ضرایب نفوذ موثر از دست دادن رطوبت و جذب مواد با استفاده از مدل اصلاح شده قانون دوم فیک پیش‌بینی گردید. بررسی‌ها نشان دادند که مقادیر از دست دادن آب و جذب مواد جامد به صورت غیرخطی در برابر مدت زمان غوطه‌وری افزایش یافت و میزان جذب مواد جامد در ابتدای فرآیند سریع و در ادامه کندتر شد. مدل آروارا با قابلیت پیش‌بینی مطلوب نقاط تعادلی، مدلی مناسب برای برآزش داده‌های تجربی بود. ضرایب نفوذ موثر با افزایش غلظت ساکارز و ترکیبات فنولی به ترتیب از 40 به 50 درصد و از 10 تا 20 درصد، برای هر دو پارامتر از دست دادن آب و جذب مواد جامد افزایش یافتند. ضریب نفوذ موثر مواد جامد بین $0/61 \times 10^{-9}$ تا $4/23 \times 10^{-9}$ متر مربع بر ثانیه و ضریب نفوذ آب بین $2/13 \times 10^{-9}$ تا $2/77 \times 10^{-9}$ مترمربع بر ثانیه متغیر بود.

واژه‌های کلیدی: آلوه ورا، اسمز، پسماند انگور، انتقال جرم، ترکیبات فنولی.

مقدمه

می‌توان تخمین زد که سالیانه حدود 90 هزار تن پسماند انگور به عنوان ضایعات تولید و دور ریخته می‌شود (13/5 تا 14/5 درصد میزان تولید آب‌میوه، پسماند انگور تولید می‌شود (Galanakis, 2013)). پسماند انگور حاوی آب، پروتئین، چربی، کربوهیدرات ویتامین و مواد آلی معدنی و ترکیبات فنولی شامل (تانن، اسید فنولیک و آنتوسیانین‌ها) می‌باشد (Rozek et al., 2010). ترکیبات فنولی استخراج‌شده از پسماند انگور با فعالیت ضد اکسایشی خود شناخته می‌شوند که باعث کند شدن سرعت پیری شده و خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن شایع همچون سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی را کاهش می‌دهند (Karacabey et al., 2010). با توجه به افزایش مصرف میان وعده‌ها در بین کودکان و دانش‌آموزان، انتخاب میان وعده‌های غذایی مناسب باعث افزایش ارزش تغذیه‌ای و سلامت بخشی آن‌ها می‌گردد. ژل آلوه ورا حاوی ترکیباتی از قبیل ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و مواد معدنی نظیر آلومین فامودین، آنتراکینون، ایزوبارالوئین، و صمغ می‌باشد. بنابراین، ژل آلوه ورا به عنوان یک بسته مناسب به منظور انتقال ترکیبات ضروری برای بدن (مانند انواع ترکیبات

امروزه محدوده وسیعی از افزودنی‌ها با اهداف گوناگون در تهیه فرآورده‌های غذایی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. اهمیت این افزودنی‌ها به حدی است که بدون بهره‌گیری از آنها، تولید و مصرف بسیاری از فرآورده‌های غذایی تقریباً غیرممکن می‌شود. یکی از مهم‌ترین افزودنی‌های غذایی، ترکیبات ضد اکسایشی سنتزی می‌باشند که کاربرد آنها در مواد غذایی بدلیل ایمن نبودن محدود می‌باشد (Teixeira et al., 2004). یکی از منابع با ارزش برای تولید افزودنی‌های طبیعی (ترکیبات ضد اکسایشی)، ضایعات محصولات کشاورزی همانند پسماند انگور حاصل از کارخانه‌های صنایع تبدیلی می‌باشند (Galanakis, 2013; Louli et al., 2004; Paramás et al., 2004). میزان تولید انگور در سال زراعی 93-94 حدود 3/2 میلیون تن برآورد شده است (آمارنامه وزارت کشاورزی سال 1395) و طبق نظر کارشناسان، 20 درصد از انگور در تولید آب میوه استفاده می‌گردد که معادل تقریباً 6/5 میلیون تن در سال می‌باشد. بنابراین،

(* نویسنده مسئول: Email: azarpazhooh@gmail.com
DOI: 10.22067/ifstrj.v14i5.67502

۲ و ۳: به ترتیب استادیار پژوهش بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر غلظت ساکارز و آرگول بر سینتیک انتقال جرم حین آبیگری اسمزی ژل آلوهورا و تعیین ضریب نفوذ مؤثر ترکیبات فنولی و کاهش رطوبت سطحی با استفاده از معادله دو پارامتری آزارا انجام شد.

مواد و روش‌ها

برگ‌های آلوهورا رقم Aloe barbandensis Miller از گلخانه آلوه پودیس واقع در مشهد، پسماند انگور قرمز (آرگول) از شرکت فرآورده‌های غذایی آستان قدس رضوی، آگار و شکر از بازار تهیه گردیدند. ژل آلوهورا و پسماند انگور تا زمان استفاده در فریزر در دمای منفی 18 درجه سلسیوس نگهداری شدند. سایر مواد شیمیایی مورد نیاز با درجه تجزیه‌ای از شرکت‌های سیگما و مرک خریداری شدند.

تهیه ژل آلوهورا با آگار

ابتدا ژل‌های آلوه ورا توسط دستگاه خردکن کاملاً خرد و یکنواخت شدند. سپس، محلول پودر آگار از مخلوط کردن 4 گرم آگار با 60 میلی‌لیتر آب مقطر در دمای 85 درجه سلسیوس تهیه شد. محلول آگار تهیه شده با ژل آلوهورا خرد شده مخلوط و به مدت 2 ساعت جهت بستن ژل در داخل یخچال با دمای 4 درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس توسط قالب استوانه‌ای با ابعاد 20×20 میلی‌متر برش داده شدند و رطوبت سطحی برش‌های تهیه شده با کاغذ جاذب رطوبت گرفته و وزن آن‌ها مشخص گردید.

روش تهیه ترکیبات فنولی از پسماند انگور (آرگول)

ابتدا 100 گرم پسماند انگور به دقت وزن شده و در یک بشر حاوی 400 میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. استخراج عصاره از نمونه‌ها با استفاده از حلال آب انجام شد. سپس محلول در شرایط تحت خلأ صاف گردید و با تبخیرکننده دوار تحت خلأ (Laborota 4000 efficient، آلمان) در دمای 45 درجه سلسیوس تا حد امکان آبیگری و تغلیظ گردید (Sotillo, Hadley, & Holm, 1994).

آبیگری اسمزی

به منظور بررسی نفوذ ترکیبات فنولی در بافت میوه آلوهورا، محلول‌های حاوی عصاره پسماند انگور با غلظت‌های 10، 20 و 30 درصد (وزنی/وزنی) تهیه شد و سپس غلظت مواد جامد محلول در آن تا رسیدن به درجه بریکس نهایی 40، 50 و 60 درصد با اضافه کردن ساکارز تنظیم شد. برش‌های استوانه‌ای ژل آلوهورا توزین و در محلول‌های اسمزی غوطه‌ور گردید. نسبت نمونه‌های به محلول اسمزی 1 به 4 در نظر گرفته شد. فرآیند اسمز در حمام بخار با دمای ثابت 50 درجه سلسیوس (براساس مطالعات تجزیه حرارتی ترکیبات

صداکسایشی) مطرح می‌باشد. به منظور غنی‌سازی میان وعده‌های غذایی از روش‌های مختلفی می‌توان استفاده کرد که یکی از روش‌های نوین استفاده از نفوذ ترکیبات عملگرا با استفاده از فرآیند اسمزی می‌باشد. فرآیند اسمز یک فناوری قابل دسترس برای غنی‌سازی برخی از میوه‌ها و سبزی‌ها با ترکیبات فراسودمند است، که می‌تواند منجر به تولید غذاهای فراسودمند نوین و ایجاد فرصت‌های تجاری جدید شود. ترکیباتی که بیشتر در ماده غذایی نفوذ می‌کنند شامل ترکیبات فنولی، مواد معدنی، آنتی اکسیدان‌ها، ویتامین‌ها، آنزیم پکتین متیل استراز (Kirtil et al., 2014)، پروبیوتیک‌ها و فلاوونوئیدها هستند (Bellary et al., 2014). انتقال جرم از نوع نفوذ ترکیبات عملگرا طی آبیگری مواد غذایی فرآیندی بسیار پیچیده و شامل سازوکارهای مختلفی نظیر نفوذ مولکولی، حرکت در لوله‌های موئین، نفوذ مایع در خلل و فرج ماده جامد، جریان هیدرودینامیکی و یا نفوذ سطحی می‌باشد (Rózek et al., 2010). خروج رطوبت مهم‌ترین عامل کنترل‌کننده فرآیند آبیگری محسوب می‌شود در ضمن فرآیند، با توجه به اینکه سازوکارهای مختلفی در انتقال جرم مؤثر می‌باشند، بررسی هر سازوکار و اندازه‌گیری میزان انتقال جرم در هر یک دشوار به نظر می‌رسد. از این رو در چنین فرآیندهایی از توصیف نفوذ یا نفوذ مؤثر و برای بیان مفهوم آن از قانون فیک استفاده می‌شود. در این راستا توسعه مدل مناسب برای مطالعه رفتار فرآیندهای آبیگری و پدیده‌های نفوذ مواد جامد و خروج آب از اهمیت بالایی برخوردار است (Azarpazhooh et al., 2010). هدف از فرآیند مدل‌سازی، برازش داده‌های آزمایشگاهی با مدل‌های تجربی پیشنهادی و انتخاب مناسب‌ترین مدل جهت بررسی روند تغییرات ماده غذایی طی فرآیند آبیگری اسمزی، خشک کردن، طراحی خشک‌کن‌های صنعتی مناسب و یا بهبود سامانه‌های مورد استفاده است (Bergman et al., 2011). قانون دوم فیک به‌طور گسترده‌ای به‌منظور مدل‌سازی انتقال جرم آب و مواد جامد طی آبیگری اسمزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. لازم به ذکر است که تغییر در ساختار منافذ مواد غذایی ضریب نفوذ را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در فرآورده‌های متخلخل‌تر، ضریب نفوذ رطوبت به‌خاطر امکان تحرک بیشتر، بالاتر است (Fito et al., 2001). اگرچه Crank (1949)، قانون فیک را برای اشکال تیغه، استوانه و کره در شرایط مرزی مختلف گسترش داد، اما لازم است که مقادیر تجربی کاهش رطوبت تعادلی (ML_e) و مقادیر ضریب نفوذ مؤثر (D) مشخص شود. به همین منظور معادله دو پارامتری که قادر به پیش‌بینی مقادیر ML_e است، توسط Azuara و همکاران (1992) ارائه شد. این مدل توسط Azarpazhooh و Ramaswamy (2009 a) به‌منظور تعیین مقادیر تعادلی رطوبت و جذب مواد به‌کار گرفته شد.

براساس اطلاعات موجود، تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با نفوذ ترکیبات فنولی در طی فرآیند اسمز در ژل آلوهورا در دسترس نیست.

و $1/S_2$ بسیار بیشتر شود (یعنی t به e میل کند)، مقادیر کاهش رطوبت ML_t و جذب مواد جامد SG_t به مقادیر تعادلی یعنی ML_e و SG_e نزدیک می‌شود.

رابطه 3 می‌تواند به حالت خطی زیر بیان شود:

$$\frac{t}{ML_t} = \frac{1}{S_1 (ML_e)} + \frac{t}{ML_e} \quad (5)$$

به‌طور مشابه برای جذب مواد جامد (رابطه 6) بیان می‌شود:

$$\frac{t}{SG_t} = \frac{1}{S_2 (SG_e)} + \frac{t}{SG_e} \quad (6)$$

کاهش رطوبت تعادلی و جذب مواد جامد در حالت تعادل به ترتیب

از شیب نمودارهای t/ML_t و t/SG_t در برابر زمان t محاسبه می‌شود (Sutar et al., 2007; Azarpazhooh et al., 2009 b).

تعیین ضریب نفوذ موثر

با استفاده از قانون دوم فیک، ضریب نفوذ موثر در انتقال رطوبت و جذب مواد جامد محاسبه شد. ضریب نفوذ موثر در یک استوانه محدود با داشتن مقادیر کاهش رطوبت و جذب مواد جامد تعیین می‌شود (رابطه 7):

$$k_{mfc} = 056e^{\frac{-8.25}{a^2}} Dt \quad (7)$$

که در رابطه 7، K_{mfc} غلظت جرمی ناپایا در یک استوانه محدود و a قطر استوانه می‌باشد.

برای کاهش رطوبت:

$$K_{mfcw} = \frac{M_e x_e - M_t x_t}{M_e x_e - M_0 x_0} = \frac{ML_e - ML_t}{ML_e - ML_0} \quad (8)$$

که ML_0, ML_t در رابطه 8 و ML_e به ترتیب کاهش رطوبت نمونه‌ها در ابتدای فرآیند، در زمان t و در حالت تعادل هستند.

به‌طور مشابه برای جذب مواد جامد داریم:

$$K_{mfcs} = \frac{M_e s_e - M_t s_t}{M_e s_e - M_0 s_0} = \frac{SG_e - SG_t}{SG_e - SG_0} \quad (9)$$

که در رابطه 9، SG_0, SG_t و SG_e به ترتیب مقادیر جذب مواد جامد در ابتدای فرآیند، در زمان t و در حالت تعادل می‌باشند. ضریب نفوذ مؤثر آب (D_{ew}) و مواد جامد (D_{es}) در نمونه‌های تحت فرآیند اسمز از

رسم نمودارهای $\ln \frac{SG_e - SG_t}{SG_e - SG_0}$ و $\ln \frac{ML_e - ML_t}{ML_e - ML_0}$ در برابر زمان t تعیین می‌شوند. برازش نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شد. ضریب تبیین (R^2) به‌منظور تعیین مناسب بودن مدل برازش شده مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری طرح با استفاده از آزمایش فاکتوریل (شامل

فنولی انگور) انجام شد. بعد از طی شدن زمان فرآیند (30، 60، 90 و 120 دقیقه) نمونه‌ها از محلول اسمزی خارج شده و پس از شستشو با آب مقطر بلافاصله با کاغذ صافی خشک و مجدداً توزین شدند (Azarpazhooh et al., 2009 a).

تعیین میزان رطوبت

درصد رطوبت آن‌ها براساس استاندارد AOAC, 2005 با استفاده از آون در دمای 105 درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت تعیین گردید.

اندازه‌گیری میزان آب‌زدایی، افزایش ماده جامد جذب شده

میزان آب‌زدایی (ML)، میزان جذب ماده جامد (SG) در حین فرآیند اسمزی با استفاده از روابط (1 و 2) محاسبه گردید (Lerici et al., 1985)

$$\% ML = 100 \frac{(M_0 x_0 - M_t x_t)}{M_0} \quad (1)$$

$$\% SG = 100 \frac{(M_0 s_0 - M_t s_t)}{M_0} \quad (2)$$

S_0 = وزن ماده خشک نمونه تازه (گرم)

S = وزن ماده خشک نمونه اسمزی شده (گرم)

M_0 = وزن نمونه تازه (گرم)

M_t = وزن نمونه اسمزی شده (گرم)

مقادیر تعادلی از دست دادن آب و جذب مواد با استفاده از مدل دو پارامتری آژوآرا براساس روابط 3 و 4 محاسبه گردید. علت استفاده از مدل فوق توانایی پیش‌بینی رطوبت تعادلی و جذب مواد تعادلی می‌باشد. با دانستن مقدار ML_e تغییرات که در مقادیر کاهش رطوبت اتفاق می‌افتد با استفاده از رابطه 3 محاسبه می‌شود:

$$ML_t = \frac{S_1 t (ML_e)}{1 + S_1 t} = \frac{t (ML_e)}{\frac{1}{S_1} + t} \quad (3)$$

همچنین برای جذب مواد جامد از رابطه 4 استفاده می‌شود.

$$SG_t = \frac{S_2 t (SG_e)}{1 + S_2 t} = \frac{t (SG_e)}{\frac{1}{S_2} + t} \quad (4)$$

در این روابط ML_t و SG_t به ترتیب نسبت‌های کاهش رطوبت و جذب مواد جامد در زمان t می‌باشند و همچنین S_1 و S_2 دو مقدار ثابتی هستند که به سرعت جریان آب خارج شده از نمونه و مواد جامد وارد شده به نمونه ژل مرتبط هستند. $1/S_1$ و $1/S_2$ به ترتیب بیانگر زمان مورد نیاز برای تراوش نیمی از مواد نفوذ یافته (یعنی رطوبت و مواد جامد) به خارج از ماتریکس نمونه و یا نفوذ به داخل ماتریکس نمونه هستند. ML_e نسبت کاهش رطوبت تعادلی و SG_e نسبت جذب مواد جامد در حالت تعادل می‌باشد. هنگامی که زمان t از مقادیر $1/S_1$

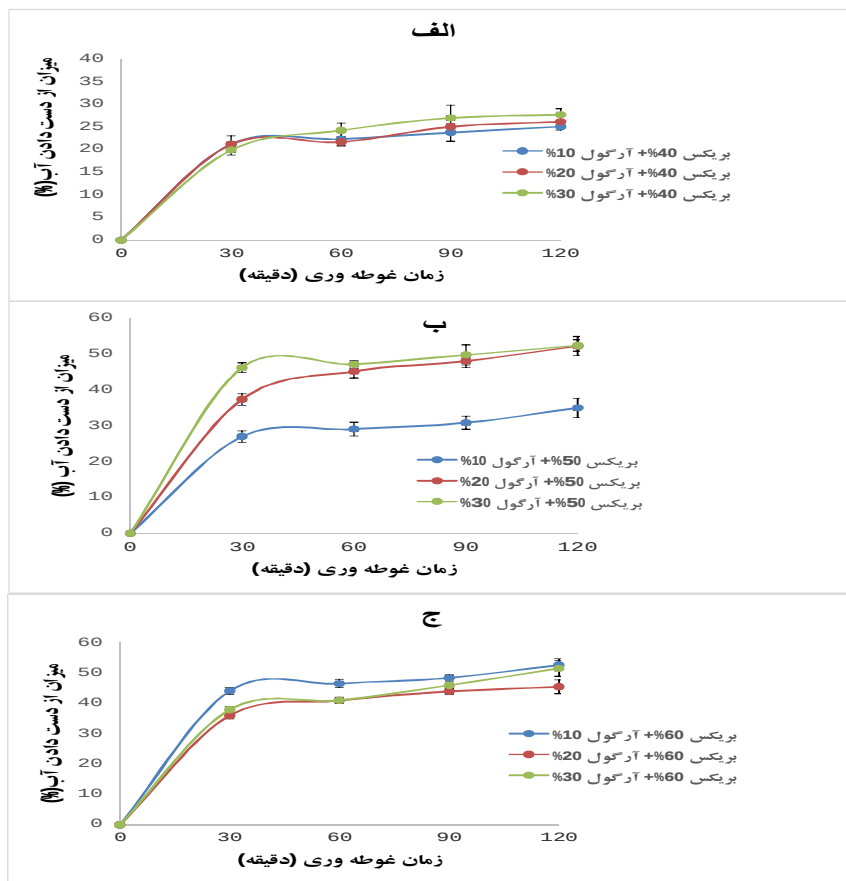
تبادل بین خروج آب از محصول و نفوذ عامل اسمزی به درون آن ایجاد شود. اما تا برقراری این تعادل، امکان انتقال جرم وجود دارد. نتایج مشابه توسط آذرپژوه و همکاران (2012) به دست آمد. همچنین، با افزایش غلظت ساکارز در محلول اسمزی گرادیان غلظت بین مواد جامد محلول در ژل و محلول اسمزی افزایش یافت. این پدیده، باعث می شود که مقادیر بیشتری از رطوبت در نقطه تعادل از نمونه خارج شود که به معنای افزایش مقادیر از دست دادن آب در حالت تعادلی و افزایش آگیری اسمزی است. این یافته ها مشابه با یافته های Fernandes و همکاران (2008) در فرآیند خشک کردن آناناس، Rodrigues و Fernandes (2007) در فرآیند آگیری موز می باشند. در غلظت های بالا ساکارز (60 درصد)، از نیروی محرکه آب کاسته شد و آهنگ افزایش مقادیر از دست دادن آب کاهش پیدا کرد. دلیل این امر، کاهش یا مسدود شدن منافذ موجود در بافت نمونه برای خروج بیشتر رطوبت می باشد (Sabetghadam et al., 2015).

فاکتورهای غلظت آرگول، غلظت ساکارز و زمان غوطه وری در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام و مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 18 و بر اساس آزمون دانکن در سطح 5 درصد ($p < 0/05$) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تأثیر تیمار اسمزی بر میزان از دست دادن آب در ژل آلونئورا

تأثیر مدت زمان تیمار اسمز بر مقادیر از دست دادن آب در شکل 1 (الف، ب، ج) نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود، در تمامی غلظت های ساکارز، با گذشت زمان میزان از دست دادن آب افزایش یافت. این روند را می توان به اختلاف غلظت بین مواد محلول در بافت نمونه و محلول اسمزی که سبب ایجاد فشار اسمزی می شود، نسبت داد. با افزایش زمان تماس محلول اسمزی با ژل، آب بیشتری از میوه خارج می شود. البته این مسئله تا زمانی صورت می گیرد که



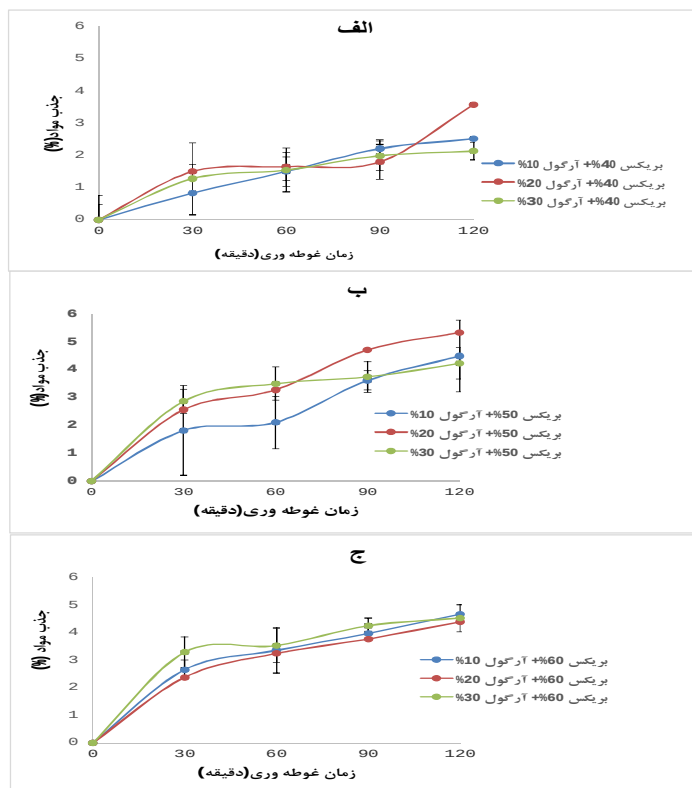
شکل 1- تأثیر غلظت ساکارز و آرگول بر میزان از دست دادن آب (ML) در زمان های مختلف غوطه وری. الف: بریکس 40 درصد + آرگول (10، 20 و 30 درصد)؛ ب: بریکس 50 درصد + آرگول (10، 20 و 30 درصد)؛ ج: بریکس 60 درصد + آرگول (10، 20 و 30 درصد).

مشاهده می‌شود. با گذشت زمان غلظت محلول اسمزی رقیق‌تر شده و نیروی محرکه کاهش می‌یابد در نتیجه نرخ انتقال جرم به حالت تعادلی می‌رسد. نتایج مشابه توسط Sunjka و همکاران (2004) برای میوه کرانبری به‌دست آمده است.

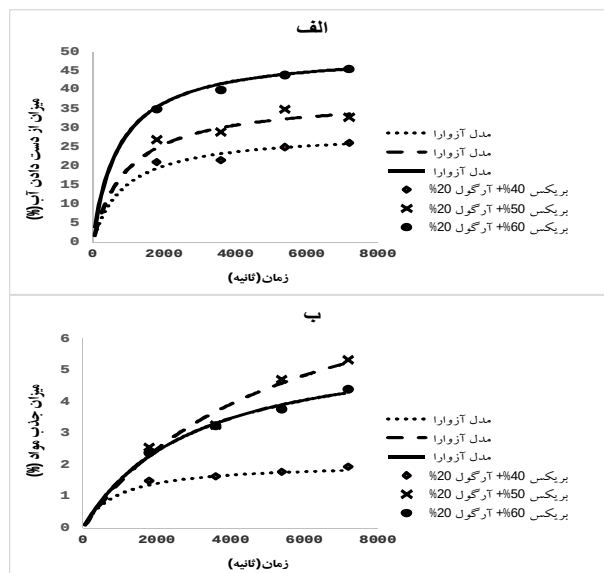
برازش داده‌های پیش تیمار اسمزی با استفاده از مدل آزوارا
معادله‌ای دو پارامتری در رابطه با تعادل جرم که توسط Azuara و همکاران (1998) پیشنهاد شد، به‌منظور محاسبه نقطه تعادل و پیش‌بینی سینتیک آبیگری اسمزی مورد استفاده قرار گرفت. این مدل برازش خوبی با داده‌های مربوط به مطالعه بر روی سیب (Azarpazhooh *et al.*, 2009 a)، پیاز (Sutar *et al.*, 2007)، هویج (Singh *et al.*, 2007) نشان داده است. مقادیر تجربی و پیش‌بینی شده از دست دادن آب و جذب مواد جامد در زمان‌های مختلف زمان بر اساس مدل آزوارا در غلظت‌های مختلف ساکارز در شکل‌های 3 (الف و ب) نشان داده شده‌اند. در این پژوهش مقادیر از دست دادن آب و جذب مواد جامد در زمان‌های مختلف با داده‌های تجربی این مدل برازش داده شد. (جدول 2)

تأثیر تیمار اسمزی بر میزان جذب مواد در ژل آلونه‌ورا

مقادیر جذب مواد جامد در برابر زمان‌های مختلف در غلظت‌های مختلف ساکارز و آرگول در شکل 2، نشان داده شده است. نتایج نشان داد، در تمام شرایط مورد مطالعه مقادیر جذب مواد جامد به‌صورت غیرخطی در برابر مدت زمان غوطه‌وری افزایش یافت. همچنین از شکل 2 (الف، ب، ج) مشخص است که میزان جذب مواد جامد در ابتدای فرآیند سریع‌تر و در ادامه کندتر می‌شود. دلیل آن این است که با افزایش مدت زمان غوطه‌وری نیروی محرکه آب و مواد جامد برای ادامه فرآیند اسمز کاهش می‌یابد. همچنین، اثر غلظت ساکارز بر میزان جذب مواد جامد در حالت تعادلی مشابه با اثر مشاهده شده بر از دست دادن آب در حالت تعادلی می‌باشد. با افزایش غلظت ساکارز محلول از 40 تا 50 درصد، مقادیر جذب مواد در حالت تعادلی افزایش یافت، هرچند این اختلاف معنی‌دار نبود ($P < 0/05$). رفتار انقباضی که در نتیجه اثر اسفنجی اتفاق می‌افتد ممکن است از طرفی باعث خروج مواد جامد ماده غذایی به درون محلول اسمزی و از طرف دیگر منجر به جذب مواد محلول شود. در زمان شروع فرآیند به دلیل افزایش نیروی محرکه بین نمونه هیپرتونیک، بیشترین نرخ انتقال جرم



شکل 2 - تأثیر غلظت ساکارز و آرگول بر درصد جذب مواد (SG) در زمان‌های مختلف غوطه‌وری. الف: بریکس 40 درصد+آرگول (10، 20 و 30 درصد) ب: بریکس 50 درصد+آرگول (10، 20 و 30 درصد) ج: بریکس 60 درصد+آرگول (10، 20 و 30 درصد).



شکل 3- برازش الف، مقادیر از دست دادن آب (ML)، میزان جذب مواد (SG) با مدل آزوآرا در غلظت های مختلف ساکارز و آرگول. داده های تجربی (نقاط مشخص شده در نمودار) با مدل آزوآرا (خطوط مشخص در نمودار) برازش داده شده اند.

جدول 2- نتایج برازش داده های فرآیند اسمز با مدل دو پارامتری آزوآرا

غلظت ساکارز (درصد)	غلظت آرگول (درصد)	R^2	$S_2 \times 10^{-4}$	SG_e	R^2	$S_1 \times 10^{-4}$	ML_e
40	10	0/98	0/69	1/23	0/99	1/6	26/80
	20	0/95	1	2/07	0/92	1/2	29/07
	30	0/97	1/92	9/06	0/98	8/7	59/52
50	10	0/95	1/3	8/81	0/98	10	38/31
	20	0/97	1/92	9/06	0/98	8/7	59/52
	30	0/99	6/1	4/95	0/99	2/2	54/94
60	10	0/97	3/1	6/28	0/99	1/6	59/17
	20	0/98	3/3	6/08	0/99	1/3	50/25
	30	0/98	7/1	5/34	0/98	7/9	58/82

R^2 ، ضریب تبیین؛ S_1 و S_2 ، ثابت های مدل آزوآرا؛ ML_e و SG_e ، به ترتیب مقادیر از دست دادن آب و جذب مواد در حالت تعادل.

0/94 و 0/99 بود. این نتایج نشان داد که مدل آزوآرا برای مدل سازی داده های این پژوهش کاملاً مناسب است.

ضریب نفوذ مؤثر

ضریب نفوذ مؤثر (D_m و D_s) به عنوان یکی از پارامترهای سینتیک آبیگری اسمزی است که به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (Azarpazhooh & Ramaswamy, 2009b). مقادیر ضریب نفوذ مؤثر آب و مواد جامد طی فرآیند اسمز در جدول 3 گزارش شده است. همان طور که مشاهده می شود، نتایج بیانگر اثر مثبت افزایش غلظت ساکارز بر مقادیر ضریب نفوذ مؤثر رطوبت و مواد جامد می باشند، به طوری که با افزایش غلظت مواد تا از 40 تا 50 درصد شیب گرادیان غلظت این ضرایب افزایش می یابند درحالی که

نمودارهای فرم خطی شده مدل برای غلظت های مختلف ساکارز و آرگول رسم شده اند. تعیین مقادیر پارامترهای مختلف مدل آزوآرا شامل S_1 و S_2 و ML_e و SG_e از رسم نمودارهای t/ML_e و t/SG_e در برابر زمان امکان پذیر است. برای هر یک از تیمارهای آبیگری اسمزی مقادیر تعادلی از دست دادن آب از شیب نمودارهای t/ML_e در مقابل زمان و جذب مواد جامد در حالت تعادلی از شیب نمودارهای t/SG_e در برابر زمان محاسبه شدند. افزایش جذب مواد جامد در حالت تعادلی به علت افزایش گرادیان فشار جزئی بین نمونه و محیط اسمزی در غلظت های بالای ساکارز مشاهده شد. پارامترهای مدل آزوآرا (یعنی S_1 و S_2) از طریق نقاط تقاطع با نمودار تعیین شدند. به منظور اثبات مناسب بودن مدل آزوآرا نمودارهای t/ML_e و t/SG_e در برابر t رسم گردید. مقادیر ضریب تبیین (R^2) به دست آمده از این نمودارها بین

هسته انگور تجاری موجود در محلول اسمزی با غلظت 2/92 مول بر کیلوگرم ساکارز، ضریب نفوذ آب در بافت ژل آگار را $16/8 \times 10^{-10}$ متر مربع بر ثانیه و ضریب نفوذ ساکارز را $16/8 \times 10^{-10}$ متر مربع بر ثانیه اظهار کردند. Khoyi و همکاران (2007) ضریب نفوذ آب را برای میوه زردآلو بین $1/066 \times 10^{-9}$ تا $4/061 \times 10^{-9}$ متر مربع بر ثانیه و ضریب مواد جامد را بین $7/69 \times 10^{-9}$ تا $3/127 \times 10^{-9}$ مترمربع بر ثانیه بیان کرد.

در غلظت 60 درصد این میزان کاهش یافته است. تغییر در ساختار منافذ مواد غذایی ضریب نفوذ را تحت تاثیر قرار می دهد. در فرآورده های متخلخل تر، ضریب نفوذ مؤثر به دلیل امکان تحرک بیشتر رطوبت، بالاتر است. Bellary و همکاران (2014) در بررسی نفوذ ترکیبات کوکومینویدی به قطعات نارگیل در غلظت 50 درصد ساکارز در محلول اسمزی ضریب نفوذ آب را $0/34 \times 10^{-10}$ متر مربع بر ثانیه و ضریب نفوذ مواد جامد را $1/46 \times 10^{-10}$ متر مربع بر ثانیه گزارش کردند. Rozek و همکاران (2009) در مطالعه نفوذ ترکیبات فنولی

جدول 3- مقادیر ضرایب نفوذ آب و مواد جامد در در غلظت های 40، 50، و 60 درصد ساکارز و ۱۰، ۲۰ و 30 درصد آرگول.

غلظت ساکارز (%)	غلظت آرگول (%)	$D_s \times 10^{-9} \text{ (m}^2/\text{s)}$	$D_m \times 10^{-9} \text{ (m}^2/\text{s)}$
40	10	0/61	2/42
	20	1/21	2/43
	30	3/84	2/77
50	10	0/75	2/55
	20	2/63	2/65
	30	4/23	2/42
60	10	0/56	2/32
	20	1/69	2/25
	30	2/23	2/13

آب و جذب مواد مناسب می باشد. قانون دوم فیک برای انتقال جرم در سیستم های ناپایدار برای محاسبه ضریب نفوذ مؤثر قابل استفاده می باشد. ضرایب نفوذ مؤثر با افزایش غلظت ساکارز و ترکیبات فنولی به ترتیب از 40 به 50 درصد و از 10 تا 20 درصد، برای هر دو پارامتر از دست دادن آب و جذب مواد جامد افزایش یافتند.

نتیجه گیری

هدف از این پژوهش بررسی سینتیک انتقال جرم در طی نفوذ ترکیبات فنولی پسماند انگور در ژل آلونه ورا با کمک فرآیند اسمز و مدلسازی فرآیند ضرایب توزیع آب و مواد جامد بود. نتایج نشان داد که معادله دو پارامتری آروارا برای پیش بینی نقاط تعادلی از دست دادن

منابع

- Anonymous. 1394. Annual Agricultural Statistics. Ministry of Jihad-e-Agriculture of Iran. <www.maj.ir>.
- Azarpazhooh, E., & Ramaswamy, H. S. 2009a. Evaluation of diffusion and Azuara models for mass transfer kinetics during microwave-osmotic dehydration of apples under continuous flow medium-spray conditions. *Drying Technology*, 28(1), 57-67.
- Azarpazhooh, E., & Ramaswamy, H. S. 2009b. Microwave-osmotic dehydration of apples under continuous flow medium spray conditions: comparison with other methods. *Drying Technology*, 28(1), 49-56.
- Azarpazhooh, E., & Ramaswamy, H.S. 2012. Modeling and optimization of microwave osmotic dehydration of apple cylinders under continuous- flow spray mode processing conditions. *Food and Bioprocess Technology*, 5(5), 1486-1501.
- Azuara, E., Cortés, R., Garcia, H. S., & Beristain, C. I. 1992. Kinetic model for osmotic dehydration and its relationship with Fick's second law. *International journal of food science & technology*, 27(4), 409-418.
- Bellary, A. N., & Rastogi, N. K. 2014. Ways and Means for the Infusion of Bioactive Constituents in Solid Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, (just- accepted), 0.
- Bergman, T. L., Incropera, F. P., & Lavine, A. S. 2011. Fundamentals of heat and mass transfer. *John Wiley & Sons*.
- Crank, J. and G. Park. 1949. An evaluation of the diffusion coefficient for chloroform in polystyrene from simple absorption experiments. *Transactions of the Faraday Society* 45: 240-249.
- Femandes, F. A. N., Gallao, M. I., & Rodrigues, S. 2008. Effect of osmotic dehydration and ultrasound pre- treatment on cell structure: Melon dehydration. *LWT- Food Science and Technology*, 41(4), 604- 610.
- Fernandes, F. A.N., & Rodrigues, S. 2007. Ultrasound as pre-treatment for drying of fruits: Dehydration of banana.

Journal of Food Engineering, 82(2), 261- 267.

Fernandes, F. A.N., Oliveira, F. I. P., & Rodrigues, S. (2008). Use of ultrasound for dehydration of papayas. *Food and Bioprocess Technology*, 1(4), 339-345.

Fito, P., Chiralt, A., Barat, J. M., Andrés, A., Martínez- Monzó, J., & Martínez- Navarrete, N. 2001. Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 297- 302.

Galanakis, C. M. 2013. Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: a viewpoint of opportunities and challenges. *Food and Bioprocess Technology* 91(4): 575-579.

González-Paramás, A.M., Esteban-Ruano, S., Santos-Buelga, C., Pascual-Teresa, S., & Rivas-Gonzalo, J.C. 2004. Flavonol content and antioxidant activity in winery byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 234–238.

Karacabey, E., & Mazza, G. 2010. Optimisation of antioxidant activity of grape cane extracts using response surface methodology. *Food Chemistry*, 119(1), 343-348.

Khoyi, M. R., & Hesari, J. 2007. Osmotic dehydration kinetics of apricot using sucrose solution. *Journal of Food Engineering*. 78(4). 1355-1360.

Kirtil, E., Oztop, M. H. Sirijariyawat, A. Ngamchuachit, P. Barrett D. M., & McCarthy, M. J. 2014. Effect of pectin methyl esterase (PME) and CaCl₂ infusion on the cell integrity of fresh-cut and frozen-thawed mangoes: An NMR relaxometry study. *Food research international* 66: 409-416.

Lerici, C., G. Pinnavaia, M. D. Rosa, MD., & Bartolucci, L. 1985. Osmotic dehydration of fruit: Influence of osmotic agents on drying behavior and product quality. *Journal of Food science* 50(5): 1217-1219.

Louli, V., Ragoussis, N., Magoulas, K .2004. Recovery of phenolics antioxidants from wine industry by-products. *Bioresource Technology* 92, 201–208.

Rózek, A., García- Pérez, J. V, López, F., Güell, C., & Ferrando, M. 2010. Infusion of grape phenolics into fruits and vegetables by osmotic treatment: Phenolic stability during air drying. *Journal of Food Engineering*, 99(2), 142-150.

Sabetghadam, M., & Tavakolipour, H. 2015. Osmo- coating and ultrasonic dehydration as pre- treatment for hot air-drying of flavored apple. *Engineering in Agriculture, Environment and Food*.

Singh, B., Kumar, A., & Gupta, A. K. 2007. Study of mass transfer kinetics and effective diffusivity during osmotic dehydration of carrot cubes. *Journal of Engineering* 79(2), 471- 480.

Singh, S., Shivhare, U. S., Ahmed, J., & Raghavan, G. S. V. 1999. Osmotic concentration Kinetics and quality of carrot preserve. *Food Research International*, 32(7), 509- 514.

Sotillo, D.R, Hadley, M. & Holm, ET. 1994. Phenolics in aqueous potato peel extract: extraction, identification and degradation. *Journal of Food Science*, 59(3), 649-651.

Sunjka, P., & Raghavan, G. 2004. Assessment of pretreatment methods and osmotic dehydration for cranberries. *Canadian Biosystems Engineering*, 46(1), 45-48.

Sutar, P. P., & Gupta, D. K. 2007. Mathematical modeling of mass transfer in osmotic dehydration of onion slices. *Journal of Engineering*, 78(1), 90- 97.



Mass transfer kinetics in infusion of phenolic compounds extracted from grape pomace into Aloe vera gel by osmotic dehydration

E. Azarpazhooh^{1*}, P. Sharayei¹, F. Gheibi¹

Received: 2017.09.19

Accepted: 2018.01.24

Introduction: The current study was carried out to investigate the kinetics of infusion of phenolic compounds extracted from grape pomace (Argol) into Aloe vera gel cylinders. Aloe vera gel was treated at 50 °C in different osmotic solution with (40, 50 and 60) % sucrose plus (10, 20 and 30) % Argol, for 0–120 min. The fruit to solution ratio was kept 1:4 (w/w) during all experiments. A two parameters model was used for prediction of kinetics of mass transfer and values of equilibrium moisture loss and solid gain. Moisture and solid effective diffusivities were estimated using Fick's second law of diffusion. Results showed that Azuara model has the potential for estimating the equilibrium points. In addition, a good correlation between predicted and experimental values were obtained by this model. Besides, moisture and solid effective diffusivities increased by increasing sucrose solution and Argol from 40 to 50 percentage and 10 to 20 percentages, respectively. Moisture and solid diffusivities were found in the range of $0.61\text{--}4.23 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ and $2.13\text{--}2.77 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, respectively. Functional food is an emerging field in food science due to its increasing popularity with health-conscious consumers and the ability of marketers to create new interest in existing products. New by-product application should be investigated to have a positive environmental impact or to turn them into useful products. The use of by-product such as the grape juice pomace (Argol), results in the return of these valuable sources into the food cycle as well as an improvement in nutritional value and functional products in the food industry. Red grape (*Vitis vinifera* L.) pomace contains a large amount of polyphenolic compounds, therefore extraction of bioactive compounds promote human health. It is not as easy to mix the functional ingredient in the solid system as it is, in the case of the powder and liquid products. With the help of osmotic dehydration, many researchers have demonstrated the infusion of active compounds such as mineral, phenolic compounds, curcuminoids, probiotics and vitamins into solid food tissue. Fruits such as aloe vera, which have a short shelf life and are suitable system models for infusion of phenolic compounds during osmotic dehydration. Osmotic dehydration can prove useful in drying aloe vera (*Aloe Barbadensis* Miller) which contains several nutritional compounds, including polysaccharides, phenolics, antioxidants, vitamins, enzymes, minerals, and so forth. The phenomenon of osmotic dehydration can be modeled by the fundamentals of mass transfer that describe the origin of the diffusive forces that are involved in and control these processes. A two-parameter equation of Azuara was used to predict the kinetics of osmotic dehydration and the final equilibrium point. The internal mass transfer occurring during osmotic dehydration of food is usually represented by Fick's second law which is the best known phenomenological model to represent the diffusional mechanism is the model of Crank, consisting of a set of solutions of Fick's law of diffusion for different geometries, boundary conditions and initial conditions. To date, there is no research on mass transfer during osmotic dehydration of aloe vera. Therefore, the objective of the present work was the infusion of Argol phenolic compounds in aloe vera gel through osmotic dehydration treatment to investigate mass transfer during osmotic treatment.

Material and methods: The Aloe Vera was added to agar and shaped into cylindrical pieces (20×20 mm). Afterwards the pieces were floated in a solution of sugar (40, 50 and 60) percentage and Argol (10, 20 and 30) percentage. The weight ratio of osmotic medium to fruit sample was 4:1 to avoid significant dilution of the medium and subsequent decrease of the driving force during the process. The experiment was performed with constant temperature of 50 °C. Samples were removed from the solution at 30, 60, 90, 180, and 120 min of immersion, drained and the excess of solution at the surface was removed with absorbent paper. Afterward, the dehydrated samples from each group were drained and blotted with absorbent paper to remove excess solution. Each assay was made in triplicate. Weight and moisture content of the samples, and moisture loss (ML) and solid gain (SG) were calculated. The curves of moisture loss and salt gain as a function of time were constructed using experimental data. A two parameters model was used for prediction of kinetics of mass transfer and values of equilibrium moisture loss and solid gain. Moisture and solid effective diffusivities were estimated by using Fick's

1. Assistant Professor, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, P.O.Box: 91735-488, Mashhad, Iran

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

second law of diffusion.

Results and discussion: Results showed that in all of the studied conditions, the levels of moisture loss and solid gain had a non-linear increase with more floatation time in the solution. Moreover, the absorption rate of solid gain was faster in the beginning but eventually slowed down. Azuara model has the potential in estimating the equilibrium points. In addition, a good correlation between predicted and experimental values was obtained by this model. Besides, increasing the concentration of sucrose and Argol from 40% to 50% and 10% to 20% respectively, the coefficient of effective penetration for both parameters (water loss and solid substance absorption) improved. In addition, the coefficient of effective penetration displayed that different levels of sucrose and Argol had a notable effect on this coefficient.

Key Words; Aloe vera, Osmosis, Grape pomace, Mass transfer, Phenolic compounds.



اثر روغن جوانه گندم استخراج شده با پیش تیمار مایکروویو بر پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا

محمدتقی گلماکانی^{1*} - مرضیه موسوی نسب² - ملیحه کرامت³ - آذین آژند⁴

تاریخ دریافت: 1396/07/21

تاریخ پذیرش: 1396/12/01

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر روش استخراج به کمک مایکروویو بر بازدهی استخراج و بعضی از خصوصیات شیمیایی روغن جوانه گندم در مقایسه با روش متداول سوکسله بود. همچنین، روغن جوانه گندم به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی برای بهبود پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا نمونه های جوانه گندم تحت پیش تیمار مایکروویو قرار گرفته و سپس عملیات استخراج با روش سوکسله انجام گردید. بازدهی استخراج، عدد صابونی، عدد اسیدی، عدد یدی و پروفایل اسیدهای چرب روغن جوانه گندم استخراج شده با مایکروویو با روش متداول سوکسله مقایسه شدند. روغن جوانه گندم در غلظت 1000 ppm به روغن ماهی کیلکا افزوده شد. روغن ماهی کیلکای فاقد آنتی اکسیدان نیز به عنوان نمونه ی کنترل در نظر گرفته شد. عدد پراکسید و آنیزیدین نمونه های روغن ماهی کیلکا طی 15 روز نگهداری در دمای 60 درجه سلسیوس اندازه گیری شدند. روش استخراج به کمک مایکروویو بازدهی استخراج روغن جوانه گندم را 15-27% افزایش داد. ترکیب اسید چرب روغن جوانه گندم استخراج شده به کمک مایکروویو مشابه با روغن استخراج شده با روش متداول سوکسله بود. عدد اسیدی و صابونی نمونه استخراج شده با مایکروویو به ترتیب 2/07% و 9/65% بیشتر از نمونه استخراج شده با سوکسله بود. عدد یدی در روش های استخراج با مایکروویو و سوکسله و به ترتیب برابر با 124/75 و 132/90 گرم ید/100 گرم روغن بود. روغن جوانه گندم به شکل قابل توجهی عدد پراکسید، آنیزیدین و توتوکس روغن ماهی کیلکا را کاهش داد. زمان القاء و فاکتور حفاظت نمونه روغن ماهی کیلکا حاوی جوانه گندم (به ترتیب 120/20 ساعت و 1/42) به طور قابل توجهی بیشتر از نمونه کنترل (به ترتیب 84/40 ساعت و 1/00) بود. به شکل کلی، روغن جوانه گندم استخراج شده با مایکروویو می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی جهت افزایش پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا پیشنهاد شود.

واژه های کلیدی: استخراج، پایداری اکسایشی، روغن جوانه گندم، روغن ماهی کیلکا، مایکروویو

مقدمه

شناخته شده است. ترکیبات فنولی موجود در روغن جوانه گندم شامل فرولیک اسید، وانیلیک اسید و گلیکوفلاون ها می باشند. لوتئین، زئزانثین و بتاکاروتن از فراوان ترین کاروتنوئیدهای موجود در روغن جوانه گندم می باشند (Panfili 2003; Kahlon 1989; Schwartz et al. 2008).

روغن جوانه گندم می تواند با استفاده از روش های مختلف مانند استخراج مکانیکی، استخراج با حلال های آلی، استخراج با حلال فوق بحرانی، استخراج با امواج فراصوت و استخراج به کمک مایکروویو به دست آید (Kou and Mitra, 2003). روش استخراج به کمک مایکروویو، یک تکنیک جدید استخراج می باشد. در این روش از ترکیب استخراج با حلال و مایکروویو استفاده می شود. مطالعات نشان داده است که استخراج به کمک مایکروویو باعث کاهش زمان استخراج، کاهش مصرف حلال، افزایش سرعت استخراج، افزایش کیفیت محصول و کاهش هزینه ها می شود (Hao et al. 2002). ماهی کیلکا یکی از مهم ترین ماهی های اقتصادی دریای خزر

جوانه گندم محصول جانبی صنایع آرد و آرد در گندم می باشد. جوانه گندم حاوی حدود 11% روغن می باشد. مقدار کل اسیدهای چرب غیراشباع و اسیدهای چرب چند غیراشباع در روغن جوانه گندم به ترتیب برابر 81% و 64% می باشند (Simopoulos 1999). روغن جوانه گندم به عنوان غنی ترین منبع توکوفرول ها و استرول های گیاهی

- 1- دانشیار، بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.
- 2- استاد، بخش علوم و صنایع غذایی و گروه پژوهشی فرآوری آبزیان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.
- 3- دانشجوی دکترا، بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.
- 4- دانش آموخته کارشناسی ارشد، بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

(*) - نویسنده مسئول: (Email: golmakani@shirazu.ac.ir)
DOI: 10.22067/food.v14i5.67944

پس از تهیه نمونه‌های جوانه گندم (*Triticum aestivum* L.) شرکت آرد سپیدان (شیراز، ایران)، به منظور جلوگیری از فعالیت آنزیمی، عملیات آنزیم‌بری خشک بر اساس روش استفاده شده توسط Malekian و همکاران (2000) با کمی تغییر، در دمای 150 درجه سلسیوس به مدت 10 دقیقه بر روی نمونه‌ها انجام و پس از آن نمونه‌ها تا زمان استخراج روغن، درون بسته‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی و در محیط خشک، خنک و تاریک نگهداری شدند.

سه روش 1- استخراج روغن به روش بلی و دایر، 2- استخراج روغن به روش سوکسله و 3- استخراج روغن با استفاده از پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله بر روی نمونه‌های جوانه گندم اعمال گردید در روش بلی و دایر، استخراج روغن جوانه گندم به کمک مخلوط کلروفرم-متانول-آب (با نسبت حجمی 0/8:1:2) با استفاده از یک همزن مغناطیسی (100 دور در دقیقه) به مدت ده ساعت انجام شد (Bligh and Dyer, 1959). در روش سوکسله، روغن جوانه گندم با استفاده از حلال هگزان به مدت ده ساعت در دستگاه سوکسله (Heraeus, P5C) استخراج گردید. در روش استخراج با استفاده از پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله، در ابتدا نمونه‌ها در آون مایکروویو (فرکانس 2450 مگاهرتز، ME3410W، سامسونگ)، تحت توان 100 وات به مدت 15 دقیقه قرار گرفته و سپس عملیات استخراج با حلال هگزان در دستگاه سوکسله انجام گردید. نمونه‌های روغن در زمان‌های 2، 4، 6، 8 و 10 ساعت از فرآیند استخراج جمع‌آوری و تا زمان انجام آزمایش‌ها درون ظروف مخصوص، در محل تاریک و دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری شدند. مقدار روغن نمونه با استفاده از روش استاندارد AOAC شماره 25/01-30 اندازه‌گیری گردید (AOAC 2011).

تعیین ویژگی‌های شیمیایی روغن جوانه گندم

عدد صابونی روغن جوانه گندم مطابق با استاندارد AOAC به شماره 920/160 اندازه‌گیری گردید (AOAC2000). به منظور بررسی عدد اسیدی روغن جوانه گندم از استاندارد AOAC به شماره 940/28 استفاده شد. درصد اسیدچرب آزاد برحسب اسید اولئیک محاسبه شد (AOAC 2000). به منظور بررسی عدد یدی نمونه‌های روغن جوانه گندم از استاندارد AOAC به شماره 993/20 استفاده شد (AOAC 2000).

تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن جوانه گندم

به منظور تهیه متیل استر اسیدهای چرب، به 200 میلی‌گرم از روغن جوانه گندم 10 میلی‌لیتر مخلوط متانول - استیل کلرید 95 درصد اضافه شد. سپس نمونه به مدت 1 ساعت در دمای 85 درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از سرد شدن نمونه‌ها 5 میلی‌لیتر آب

محسوب می‌شود (Motalebi and Seyfzade 2011). روغن ماهی کیلکا منبع مهمی از اسیدهای چرب چند غیراشباعی و امگا 3 (به‌طور عمده دوکوزاهگزانوئیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید) می‌باشد (Lin and Lin 2004). مقدار اسیدهای چرب چند غیراشباعی و امگا 3 در روغن ماهی کیلکا به ترتیب در محدوده 19/43-21/77% و 16/81-13/40% می‌باشند (Fazli et al. 2009; Pazhouhanmehr et al. 2010; Pirestani et al. 2015). به دلیل بالا بودن مقدار اسیدهای چرب چند غیراشباع در روغن ماهی کیلکا، این روغن بسیار حساس به اکسایش بوده و طی مراحل مختلف فرآوری، توزیع، انبارداری و مصرف با خطر کاهش ارزش تغذیه‌ای مواجه می‌باشد (Yu et al. 2002). با توجه به پتانسیل بالای کشورمان در صید ماهی کیلکا و کیفیت تغذیه‌ای بسیار بالای روغن آن، پایداری این روغن توسط آنتی اکسیدان‌های طبیعی می‌تواند محصولی با ارزش غذایی بالا را به مصرف‌کنندگان ارائه دهد.

اثر افزودن آنتی اکسیدان‌های طبیعی بر پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی در مطالعات متعددی مورد بررسی قرار گرفته است. Pazhouhanmehr و همکاران (2015) گزارش کردند که افزودن روغن هسته بنه به روغن ماهی کیلکا باعث افزایش پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا می‌شود. Fazel و همکاران (2008) نیز بیان کردند که روغن درخت چای به شکل قابل توجهی باعث کاهش عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید روغن ماهی کیلکا نسبت به نمونه کنترل می‌شود. گالیک اسید و متیل گالات نیز باعث افزایش پایداری اکسایشی تری آسیل گلیسرول‌های روغن ماهی کیلکا و امولسیون روغن در آب آن می‌شود (Asnaashari et al. 2014).

در مطالعه حاضر اثر پیش تیمار مایکروویو بر بازدهی استخراج، ترکیب اسیدهای چرب و برخی خصوصیات شیمیایی شامل عدد یدی، عدد اسیدی و عدد صابونی روغن جوانه گندم بررسی شده است. همچنین، اثر روغن جوانه گندم استخراج شده به‌عنوان آنتی اکسیدان بر پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا با اندازه‌گیری اعداد پراکسید، آنیزیدین و توتوکس و زمان القاء بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

هگزان، متانول، استیل کلرید، ایزواکتان، اسید استیک و یدید پتاسیم از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. معرف آنیزیدین و TBHQ از شرکت سیگمای آلمان خریداری شدند. هیدروکسید پتاسیم، اسید کلریدریک، فنل فتالین و هیدروکسید سدیم و تیوسولفات سدیم از شرکت کیمیا مواد ایران خریداری شدند. اتانول و کلروفرم از شرکت دکتر مجللی ایران خریداری شدند.

استخراج روغن جوانه گندم

و عدد آنیزیدین نمونه‌های روغن ماهی کیلکا هر سه روز یک بار اندازه‌گیری شدند. جهت بررسی عدد پراکسید از استاندارد AOCS به شماره 8-53 Cd استفاده شد. عدد پاراآنیزیدین براساس روش AOCS به شماره 18-90 Cd اندازه‌گیری شد (

AOCS, 2000). میزان کل اکسایش از جمع عدد آنیزیدین به اضافه دو برابر عدد پراکسید به دست آمد (Frankel, 2005).

زمان القاء بر اساس زمان رسیدن عدد پراکسید نمونه به 20 میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم روغن ماهی کیلکا اندازه‌گیری شد (Hashemi *et al.* 2011). کارآیی هر یک از آنتی‌اکسیدان‌ها بر اساس فاکتور حفاظت و مطابق معادله (1) محاسبه شد (Hraš *et al.* 2000).

$$(1) \quad \text{فاکتور حفاظت} = \frac{\text{زمان القاء نمونه‌ی حاوی آنتی‌اکسیدان}}{\text{زمان القاء نمونه‌ی بدون آنتی‌اکسیدان}}$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمون‌ها در حداقل سه تکرار انجام و سپس میانگین و انحراف معیار با استفاده از نرم‌افزار Excel محاسبه گردید. تعیین اختلاف بین میانگین‌ها به کمک مدل خطی تعمیم یافته (GLM) در سطح اطمینان 95 درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه 9.2 صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

اثر میکروویو بر بازدهی استخراج روغن جوانه گندم

بازدهی استخراج روغن جوانه گندم به کمک روش‌های مختلف در جدول 1 نشان داده شده است.

جدول 1- اثر پیش تیمار میکروویو بر بازدهی استخراج (%) روغن جوانه گندم

روشی استخراج		زمان استخراج (ساعت)	
پیش تیمار میکروویو و در ادامه سوکسله	سوکسله	بلی و دایر	
9/09 ± 0/08 ^{Be}	7/37 ± 0/04 ^{Ce}	16/44 ± 0/06 ^{Ab*}	2
10/05 ± 0/05 ^{Bd}	8/26 ± 0/04 ^{Cd}	21/31 ± 0/04 ^{Aa}	4
10/23 ± 0/03 ^{Bc}	8/71 ± 0/04 ^{Cb}	21/31 ± 0/04 ^{Aa}	6
10/61 ± 0/03 ^{Bb}	8/51 ± 0/03 ^{Cc}	21/16 ± 0/05 ^{Aa}	8
11/09 ± 0/08 ^{Ba}	8/80 ± 0/02 ^{Ca}	21/03 ± 0/04 ^{Aa}	10

* اعداد میانگین سه تکرار بوده که به صورت میانگین ± انحراف از استاندارد، گزارش شده‌اند. میانگین‌های دارای حروف بزرگ یکسان در هر ردیف و حروف کوچک یکسان در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال 5% نمی‌باشند.

شده است (Dunfordand and Zhang, 2003). در روش استخراج بلی و دایر به دلیل استفاده از مخلوط حلال‌های قطبی (متانول و آب) و غیر قطبی (کلروفرم)، ترکیبات قطبی نیز علاوه بر ترکیبات غیرقطبی می‌توانند استخراج شوند (Bligh and Dyer 1959; Nazemi *et al.* 2010). بنابراین، بالاتر بودن میزان بازدهی استخراج

مقطر به روغن متیل استر شده اضافه و مخلوط حاصل به مدت 5 دقیقه با استفاده از همزن به‌خوبی یکنواخت شد. سپس 2 میلی‌لیتر حلال هگزان حاوی 0/01% TBHQ (جهت جلوگیری از اکسایش اسیدهای چرب غیراشباع) به مخلوط یکنواخت شده اضافه شد. بعد از یکنواخت شدن با همزن، مخلوط به مدت 5 دقیقه با سرعت 4000 دور در دقیقه در دمای 25 درجه سلسیوس سانتریفوژ شد. سپس مایع فوقانی نمونه سانتریفوژ شده (لایه هگزان) جداسازی و تا زمان تزریق در ظرف‌های مخصوص در یخچال نگهداری شد.

جهت بررسی اسید چرب روغن جوانه گندم از دستگاه کروماتوگرافی گازی (SP-3420A, Beifen, China) مجهز به شناساگر یونیزاسیون شعله‌ای استفاده شد. از ستون BPX70 ساخت شرکت SGE استرالیا با طول 120 متر، ضخامت فیلم 0/25 میکرومتر و قطر 0/25 میلی‌متر استفاده شد. گاز حامل سیستم نیتروژن بود. دمای ستون، آشکارساز و محل تزریق به ترتیب 198 (ایزوترمال)، 250 و 300 درجه سلسیوس بود. نسبت جداسازی و تفکیک مواد 1:10 بود (Golmakani *et al.*, 2012).

بررسی اثر روغن جوانه گندم بر پایداری اکسیداسیون روغن ماهی کیلکا

روغن ماهی کیلکای خام فاقد آنتی‌اکسیدان از یک کارخانه محلی خریداری شد (رشت، ایران). روغن جوانه گندم در غلظت 1000 ppm به روغن ماهی کیلکا افزوده شد. یک نمونه روغن ماهی کیلکای فاقد روغن جوانه گندم نیز به عنوان نمونه‌ی کنترل در نظر گرفته شد. نمونه‌های روغن ماهی کیلکا به مدت 15 روز در دمای 60 درجه سلسیوس در ظروف تیره‌ی سر باز نگهداری شدند. عدد پراکسید

در روش بلی و دایر با افزایش زمان استخراج از 2 به 4 ساعت، بازدهی استخراج به شکل معنی‌دار افزایش یافت ($P < 0/05$)، اما بعد از آن و با افزایش زمان استخراج از 4 به 10 ساعت، افزایش قابل توجهی در بازدهی استخراج مشاهده نشد. بازدهی روغن جوانه گندم با روش استخراج با حلال تحت فشار و سوکسله حدود 11% گزارش

نسبت به روش سوکسله می‌گردد. افزایش بازدهی استخراج در نتیجه تخریب غشای سلولی توسط امواج مایکروویو و همچنین ایجاد منافذ دائمی بوده که روغن را قادر می‌سازد تا از میان دیواره‌های سلولی نفوذپذیر عبور کند (Uquiche *et al.* 2008).

اثر پیش تیمار مایکروویو بر ترکیب اسیدهای چرب موجود در روغن جوانه گندم

اثر پیش تیمار مایکروویو بر اسیدهای چرب اصلی روغن جوانه گندم در جدول 2 نشان داده شده است.

روغن جوانه گندم در روش بلی و دایر در این مطالعه به دلیل استخراج ترکیبات قطبی تر محلول در مخلوط کلروفرم-متانول-آب می‌باشد. در دو روش استخراج با سوکسله و استخراج با استفاده از پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله با گذشت زمان، بازدهی استخراج به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کرد. همچنین، پیش تیمار مایکروویو در مقایسه با روش بدون پیش تیمار، موجب افزایش بازدهی استخراج به میزان 15-27 درصد در ساعت‌های مختلف استخراج گردید. Kadi و Amarni (2010) نیز گزارش کردند که استخراج به کمک مایکروویو روغن قنار زیتون به شکل قابل توجهی باعث افزایش بازدهی استخراج نسبت به روش سوکسله می‌شود. همچنین، استفاده از پیش تیمار مایکروویو باعث افزایش بازدهی استخراج روغن فندق

جدول 2- اثر پیش تیمار با مایکروویو بر ترکیب اسیدهای چرب (%) روغن جوانه گندم

اسید چرب	روش پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله		سوکسله	
	2 ساعت	10 ساعت	2 ساعت	10 ساعت
پالمیتیک اسید (16:0)	18/75±1/41 ^a	17/42±1/62 ^a	18/14±1/34 ^a	17/92±1/39 ^a
استئاریک اسید (18:0)	0/53±0/09 ^a	0/48±0/09 ^a	0/56±0/08 ^a	0/55±0/06 ^a
اولئیک اسید (18:1)	16/83±0/89 ^a	17/45±0/97 ^a	15/47±0/91 ^a	16/42±1/11 ^a
لینولئیک اسید (18:2)	54/99±1/24 ^a	57/63±1/36 ^a	56/60±2/31 ^a	58/61±1/21 ^a
لینولئیک اسید (18:3)	8/12±1/17 ^a	6/88±0/23 ^c	7/96±0/59 ^a	7/28±0/14 ^b
گادولئیک اسید (20:1)	0/79±0/15 ^a	0/90±0/16 ^a	1/05±0/19 ^a	0/99±0/13 ^a

* اعداد میانگین سه تکرار بوده که به صورت میانگین $\pm$ انحراف از استاندارد، گزارش شده‌اند. در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف کوچک یکسان دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال 5% نمی‌باشند.

مقادیر اولئیک و لینولئیک اسید نسبت به پالمیتیک و استئاریک اسید، به‌طور چشمگیری تحت تأثیر پیش تیمار مایکروویو قرار می‌گیرند. افزایش زمان پیش تیمار مایکروویو، کمتر شدن میزان لینولئیک اسید و بیشتر شدن مقدار اولئیک اسید را به نسبت نمونه بدون پیش تیمار به دنبال دارد. کاهش میزان لینولئیک اسید با افزایش زمان استخراج ممکن است به دلیل اکسایش لینولئیک اسید باشد (Uquiche *et al.* 2006; Yoshida *et al.* 2008). سرعت اکسایش لینولئیک اسید حدود 40 برابر بیشتر از اولئیک اسید می‌باشد (Frankel 2005).

اثر پیش تیمار مایکروویو بر مجموع اسیدهای چرب اشباع، اسیدهای چرب غیراشباع، اسیدهای چرب تک غیراشباع و اسیدهای چرب چند غیراشباع در شکل 1 نشان داده شده است. اختلاف آماری معنی‌داری در میزان اسیدهای چرب اشباع، اسیدهای چرب غیراشباع، اسیدهای چرب تک غیراشباع و اسیدهای چرب چند غیراشباع بین دو روش استخراج سوکسله و استخراج با پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله و همچنین میان زمان‌های مختلف استخراج مشاهده نگردید (P<0/05). Kiralan و همکاران (2014) نیز در بررسی اثر پیش تیمار زیره سیاه با امواج مایکروویو و سپس استخراج روغن آن با روش سوکسله گزارش کردند که پیش تیمار مایکروویو اثری بر

بین مقادیر اسیدهای چرب پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک و گادولئیک در دو روش استخراج با سوکسله و استخراج با پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله در زمان‌های 2 و 10 ساعت، تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده نگردید (P<0/05). برخلاف نتایج تحقیق حاضر، Uquiche و همکاران (2008) گزارش کردند که استفاده از پیش تیمار مایکروویو در توان 400-600 وات باعث کاهش اولئیک و لینولئیک اسید و افزایش لینولئیک و اروسیک اسید در روغن فندق می‌شود. Juhaimi و همکاران (2018) نیز بیان کردند که پیش تیمار مایکروویو در توان‌های 360، 540 و 720 وات اثر قابل توجهی بر ترکیب اسید چرب روغن هسته زردآلو دارد. بنابراین، تفاوت نتایج مطالعه حاضر با مطالعه‌های Uquiche و همکاران (2008) و Juhaimi و همکاران (2018) ممکن است به دلیل استفاده از توان پایین‌تر (100 وات) در این تحقیق باشد.

با افزایش زمان استخراج از 2 به 10 ساعت میزان لینولئیک اسید در هر دو روش به شکل معنی‌داری کاهش پیدا کرد (P<0/05). همچنین، پیش تیمار مایکروویو سبب کاهش بیشتر لینولئیک اسید گردیده است. مطابق نتایج Anjum و همکاران (2006) در بررسی اثر پیش تیمار مایکروویو بر پروفایل اسیدهای چرب روغن آفتابگردان،

ترکیب اسید چرب روغن زیره‌ی سیاه ندارد.



شکل 1- اثر پیش تیمار مایکروویو بر اسیدهای چرب اشباع، اسیدهای چرب غیر اشباع، اسیدهای چرب تک غیر اشباع و اسیدهای چرب چند غیر اشباع روغن جوانه گندم.

شده با و بدون پیش تیمار مایکروویو به ترتیب برابر با 9/58 و 9/28% بود. Uquiche و همکاران (2008) نیز افزایش عدد اسیدی روغن استخراج شده بدون پیش تیمار مایکروویو از 1/56 به 1/83 میلی گرم پتاسیم هیدروکسید/ گرم در روغن استخراج شده با پیش تیمار مایکروویو را گزارش کردند. افزایش عدد اسیدی روغن طی پیش تیمار با مایکروویو ممکن است به دلیل هیدرولیز تری گلیسریدها توسط امواج مایکروویو و افزایش اسیدهای چرب آزاد باشد (Kittiphoom and Sutasinee 2015).

اثر پیش تیمار مایکروویو بر عدد اسیدی، یدی و صابونی روغن جوانه گندم

اثر پیش تیمار مایکروویو بر عدد اسیدی، یدی و صابونی روغن جوانه گندم، در جدول 3 نشان داده شده است. عدد اسیدی در روش‌های استخراج سوکسله و استخراج با پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله به ترتیب برابر با 16/40 و 16/06 میلی گرم سدیم هیدروکسید/ گرم بود. Kiralan و همکاران (2014) نیز گزارش کردند که میزان اسید چرب آزاد روغن زیره سیاه استخراج

جدول 3- اثر پیش تیمار با امواج مایکروویو بر عدد اسیدی، یدی و صابونی روغن جوانه گندم

روش پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله	روش سوکسله	خصوصیت شیمیایی
16/40 ± 0/09 ^a	16/06 ± 0/06 ^b	عدد اسیدی (میلی گرم سدیم هیدروکسید/ گرم روغن)
198/82 ± 0/02 ^a	179/63 ± 0/04 ^b	عدد صابونی (میلی گرم پتاسیم هیدروکسید/ گرم روغن)
124/75 ± 0/07 ^b	132/9 ± 0/05 ^a	عدد یدی (گرم ید/ 100 گرم روغن)

*اعداد میانگین سه تکرار بوده که به صورت میانگین ± انحراف از استاندارد، گزارش شده‌اند. در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف کوچک یکسان دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال 5% نمی‌باشند

بافت‌های گیاهی عمدتاً به دو شکل لیپیدهای ذخیره‌ای (عمدتاً تری آسیل گلیسرول‌ها) و لیپیدهای غشایی (عمدتاً فسفولیپیدها) حضور دارند. طول زنجیره و میزان اشباعیت اسیدهای چرب موجود در فسفولیپیدها با اسیدهای چرب تری گلیسریدها متفاوت می‌باشد (Takagi et al. 1999; Yoshida et al. 2006). بنابراین، با لاتر بودن عدد صابونی روغن جوانه گندم استخراج شده با پیش تیمار مایکروویو نسبت به روش سوکسله ممکن است به دلیل تخریب

تری گلیسریدهایی که دارای اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بیشتری هستند، عدد صابونی بیشتری دارند (Uquiche et al. 2008). عدد صابونی روغن استخراج شده در روش پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله 9/65% بیشتر از عدد صابونی روغن استخراج شده به روش سوکسله بود. بنابراین، روغن استخراج شده به روش پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله، دارای اسیدهای کوتاه زنجیر بیشتری نسبت به نمونه استخراج شده به روش سوکسله می‌باشد. لیپیدها در

روغن ماهی کیلکای کنترل برابر با 84/4 ساعت و برای روغن ماهی کیلکای حاوی روغن جوانه گندم، 120/2 ساعت بود. بنابراین، روغن جوانه‌ی گندم به‌طور قابل توجهی باعث افزایش زمان القاء روغن ماهی کیلکا نسبت به نمونه کنترل می‌گردد. Pazhouhanmehr و همکاران (2015) نیز گزارش کردند که افزودن ترکیبات غیرقابل صابونی شدن هسته بنه به روغن ماهی کیلکا به شکل قابل توجهی باعث افزایش زمان القاء روغن ماهی کیلکا نسبت به نمونه کنترل می‌شود.

فاکتور حفاظت، زمان القاء نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان را نسبت به نمونه کنترل بیان می‌کند (Keramat et al. 2016). فاکتور حفاظت برای روغن ماهی کیلکای حاوی روغن جوانه گندم و روغن ماهی کیلکای کنترل به‌ترتیب برابر با 1/42 و 1/00 بود. بنابراین، نمونه حاوی روغن جوانه گندم 1/42 برابر نمونه کنترل تغییرات اکسایشی را در روغن ماهی کیلکا به تأخیر انداخته است. Hashemi و همکاران (2012) نیز گزارش کردند که در روغن منداب فاکتور حفاظت اسانس مرزه 1/6 برابر نمونه کنترل می‌باشد.

عدد آنیزیدین نشان دهنده میزان ترکیبات آلدئیدی حاصل از اکسایش ثانویه می‌باشد (Frankelm, 2005). نتایج مربوط به عدد آنیزیدین نمونه‌های روغن ماهی کیلکا طی 15 روز نگهداری در دمای 60 درجه سلسیوس در شکل 2 (ب) نشان داده شده است. افزودن روغن جوانه گندم به شکل قابل توجهی باعث کاهش سرعت تولید محصولات ثانویه‌ی اکسایشی در روغن ماهی کیلکا شده است. در انتهای دوره نگهداری، عدد آنیزیدین نمونه کنترل تقریباً 2 برابر نمونه حاوی روغن جوانه گندم بود.

عدد توتوکس شاخصی از میزان هیدروپراکسیدها و محصولات تجزیه‌ای آن‌ها بوده و تخمین بهتری از میزان پیشرفت اکسایشی روغن‌ها و چربی‌ها را ارائه می‌دهد (Frankel, 2005). نتایج مربوط به تغییرات عدد توتوکس نمونه‌های روغن ماهی کیلکا طی 15 روز نگهداری در دمای 60 درجه سلسیوس در شکل 2 (ج) نشان داده شده است. روند تغییرات عدد توتوکس مشابه عدد پراکسید بود. روغن جوانه گندم به شکل قابل توجهی باعث کاهش عدد توتوکس نمونه‌ی روغن ماهی کیلکا نسبت به نمونه کنترل گردیده است. در انتهای دوره نگهداری، روغن جوانه گندم تشکیل محصولات اولیه و ثانویه اکسایشی را به میزان 61/97 درصد نسبت به نمونه کنترل کاهش داده است. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی روغن جوانه گندم عمدتاً به دلیل وجود مقادیر قابل توجه توکوفرول‌ها و استرول‌های گیاهی می‌باشد. میزان آلفا-توکوفرول در روغن جوانه گندم در محدوده 2/319-0/166 میلی‌گرم/گرم روغن و میزان بتاتوکوفرول در محدوده 0/121-6/66 میلی‌گرم/گرم روغن می‌باشد (Molero Gómez and Martinez De La Ossa 2000).

غشای سلولی توسط امواج مایکروویو و ورود اسیدهای چرب کوتاه زنجیرتر به درون روغن جوانه گندم باشد. بر خلاف نتایج حاصل، Uquiche و همکاران (2008) کاهش عدد صابونی را در روغن فندق استخراج شده با استفاده از پیش تیمار مایکروویو (0/168) را در مقایسه با استخراج بدون پیش تیمار (0/193) گزارش کردند.

عدد یدی شاخصی از میانگین مقدار غیراشباعیت روغن‌ها و چربی‌ها می‌باشد (Knothe, 2002). عدد یدی در روغن استخراج شده به روش سوکسله به شکل معنی داری بیشتر از عدد یدی روغن استخراج شده به روش پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله می‌باشد ($P < 0/05$) که ممکن است به دلیل کاهش میزان لینولنیک اسید در روغن استخراج شده به روش پیش تیمار مایکروویو و در ادامه سوکسله باشد. بنابراین، روغن استخراج شده به روش سوکسله پایداری اکسایشی کمتری دارد. Anjum و همکاران (2006) بیان کردند که کاهش عدد یدی در تیمار با مایکروویو ممکن است به دلیل کاهش غیراشباعیت روغن در نتیجه اکسایش، پلیمریزاسیون یا شکستن اسیدهای چرب بلند زنجیر باشد.

اثر روغن جوانه گندم بر پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا

عدد پراکسید بیانگر اکسایش اولیه روغن می‌باشد (Frankel, 2005). نتایج مربوط به تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های روغن ماهی کیلکا طی دوره‌ی نگهداری در دمای 60 درجه سلسیوس در شکل 2 (الف) نشان داده شده است. تا روز ششم نگهداری، عدد پراکسید نمونه‌ی کنترل با نرخ نسبتاً پایینی افزایش پیدا کرده است. بنابراین، محصولات اولیه اکسیداسیون تا این زمان هنوز به‌طور قابل توجهی تولید نشده اند. عدد پراکسید نمونه کنترل در روز نهم با سرعت بیشتری افزایش پیدا کرده است. نمونه کنترل و نمونه حاوی روغن جوانه گندم در کاهش سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها تا روز ششم نگهداری عملکرد مشابهی داشتند، اما در روز نهم نگهداری عدد پراکسید نمونه حاوی روغن جوانه‌ی گندم به شکل معنی داری کمتر از نمونه کنترل بود ($P < 0/05$). عدد پراکسید نمونه کنترل و نمونه حاوی روغن جوانه گندم در انتهای دوره نگهداری به‌ترتیب 264/5 و 101/6 میلی‌اکی‌والان اکسیژن/کیلوگرم روغن بودند. بنابراین، روغن جوانه گندم اثر آنتی‌اکسیدانی خود را در مراحل پیشرفته اکسیداسیون به شکل بهتری نشان داده است. Malecka (2002) نیز گزارش کرد که روغن جوانه گندم به شکل قابل توجهی باعث کاهش عدد پراکسید روغن منداب نسبت به نمونه کنترل می‌شود. همچنین، روغن جوانه گندم در کاهش عدد پراکسید روغن منداب نسبت به BHA عملکرد موثرتری دارد.

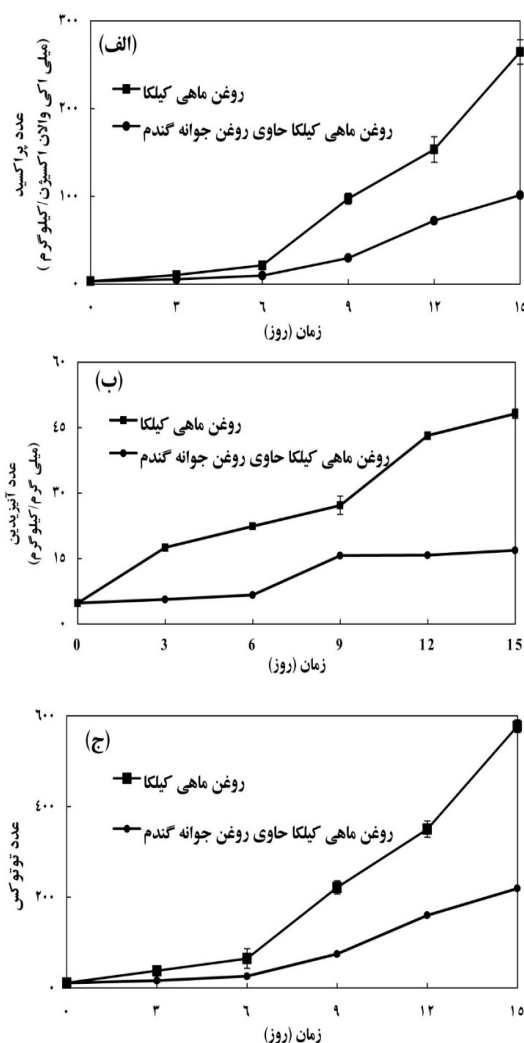
مدت زمان لازم برای رسیدن عدد پراکسید نمونه به 20 میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم روغن به‌عنوان پایان دوره‌ی القاء در نظر گرفته می‌شود (Keramat et al. 2016). زمان القاء برای

(al. 2008).

دلتا-5-اون استرول حدود 2-6% از دی متیل استرول های روغن جوانه گندم را تشکیل می دهد و سیترواستادیانول ترکیب اصلی تشکیل دهنده 4- متیل استرول می باشد. هر دوی این ترکیبات در زنجیره جانبی خود دارای پیوندهای اتیلیدن بوده و دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می باشند. همچنین، این روغن حاوی اسکوالن بوده که اثرات آنتی اکسیدانی آن در مطالعات مختلف تایید شده است (Ko et al. 2002; Małeczka 2002; Owen et al. 2000).

نتیجه گیری

در این مطالعه اثر پیش تیمار امواج میکروویو بر بازدهی استخراج، ترکیب اسیدهای چرب و برخی خصوصیات شیمیایی روغن جوانه گندم بررسی شده است. همچنین، اثر روغن جوانه گندم استخراج شده بر پایداری روغن ماهی کیلکا طی دوره نگهداری تسریع شده بررسی شده است. نتایج نشان داد که استفاده از پیش تیمار میکروویو باعث افزایش بازدهی استخراج روغن جوانه گندم می شود. اگرچه پیش تیمار میکروویو سبب کاهش میزان لینولنیک اسید در روغن جوانه گندم شده است، اما اثری بر سایر اسیدهای چرب و همچنین میزان اسیدهای چرب اشباع، اسیدهای چرب غیراشباع، اسیدهای چرب تک غیراشباع و اسیدهای چرب چند غیراشباع روغن جوانه گندم نداشته است. همچنین، پیش تیمار میکروویو منجر به افزایش عدد اسیدی و صابونی و کاهش عدد یدی روغن جوانه گندم نسبت به نمونه کنترل بدون پیش تیمار شده است. کاهش عدد یدی ممکن است به دلیل کاهش میزان لینولنیک اسید باشد. بنابراین، پیش تیمار با امواج میکروویو منجر به بهبود پایداری اکسایشی روغن جوانه گندم شده است. افزودن روغن جوانه گندم به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی به روغن ماهی کیلکا منجر به افزایش دوره القاء و همچنین کاهش اعداد پراکسید، آنیزیدین و توتوکس شده است. به شکل کلی، روغن جوانه گندم آنتی اکسیدان طبیعی مناسبی جهت افزایش پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا می باشد.



شکل 2- اثر روغن جوانه گندم بر شاخص های پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا. (الف) عدد پراکسید، (ب) عدد آنیزیدین و (ج) عدد توتوکس.

میزان استرول های گیاهی در روغن جوانه گندم نیز در محدوده میلی گرم / گرم روغن می باشد (Schwartz et al. 2003-42/42).

منابع

- AACC. 2011. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. The Association St, Paul, MN.
- Amarni, F., &Kadi, H. 2010. Kinetics study of microwave-assisted solvent extraction of oil from olive cake using hexane: comparison with the conventional extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*: 11, 322-327.
- Anjum, F., Anwar, F., Jamil, A., &Iqbal, M. 2006. Microwave roasting effects on the physico-chemical composition and oxidative stability of sunflower seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83:777-784.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOAC International, Arlington, VA.
- AOCS. 2000. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS Press,

- Champaign, Illinois.
- Asnaashari, M., Farhoosh, R., & Sharif, A. 2014. Antioxidant activity of gallic acid and methyl gallate in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion. *Food Chemistry*, 159: 439-444.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 911-917.
- Dunford, N. T., & Zhang, M. 2003. Pressurized solvent extraction of wheat germ oil. *Food Research International*, 36: 905-909.
- Fazel, M., Sahari, M. A., & Barzegar, M. 2008. Determination of main tea seed oil antioxidants and their effects on common Kilka oil. *International Food Research Journal*, 15: 209-217.
- Fazli, H., Zhang, C.I., Hay., D.E., and Lee, C.W. 2009. Stock assessment and management implications of anchovy kilka (*Clupeonella engrauliformis*) in Iranian waters of the Caspian Sea. *Fisheries Research*, 100: 103-108.
- Frankel, E.N. 2005. Lipid oxidation. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK.
- Golmakani, M. T., Mendiola, J. A., Rezaei, K., & Ibáñez, E. 2012. Expanded ethanol with CO₂ and pressurized ethyl lactate to obtain fractions enriched in γ -Linolenic Acid from *Arthrospira platensis* (*Spirulina*). *Journal of Supercritical Fluids*, 62: 109-115.
- Hao, J. Y., Han, W., Xue, B. Y., & Deng, X. 2002. Microwave-assisted extraction of artemisinin from *Artemisia annua* L. Separation and Purification Technology, 28: 191-196.
- Hashemi, M. B., Niakousari, M., Saharkhiz, M. J., & Eskandari, M. H. 2011. Influence of *Zataria multiflora* Boiss essential oil on oxidative stability of sunflower oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113: 1520-1526.
- Hashemi, M.B., Niakousari, M., Saharkhiz, M.J., & Eskandari, M.H. 2012. Effect of *Saturejakhuzestanica* essential oil on oxidative stability of sunflower oil during accelerated storage. *Natural product research*, 26: 1458-1463.
- Hraš, A.R., Hadolin, M., Knez, Ž., & Bauman, D. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry*, 71: 229-233.
- Juhami, F. A., Özcan, M. M., Ghafoor, K., & Babiker, E. E. 2018. The effect of microwave roasting on bioactive compounds, antioxidant activity and fatty acid composition of apricot kernel and oils. *Food Chemistry*, 243: 414-419.
- Kahlon, T. 1989. Nutritional implications and uses of wheat and oat kernel oil. *Cereal Foods World*, 34: 135-142.
- Keramat, M., Golmakani, M.T., Aminlari, M., & Shekarforoush, S.S. 2016. Comparative effect of *Bunium persicum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their synergy with citric acid on the oxidation of virgin olive oil. *International Journal of Food Properties*, 19: 2666-2681.
- Kiralan, M., Özkan, G., Bayrak, A., & Ramadan, M. F. (2014). Physicochemical properties and stability of black cumin (*Nigella sativa*) seed oil as affected by different extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 57: 52-58.
- Kittiphoom, S., & Sutasinee, S. 2015. Effect of microwaves pretreatments on extraction yield and quality of mango seed kernel oil. *International Food Research Journal*, 22: 960-964.
- Knothe, G. 2002. Structure indices in FA chemistry. How relevant is the iodine value. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79: 847-854.
- Ko, T. F., Weng, Y. M., & Chiou, R. Y. Y. 2002. Squalene content and antioxidant activity of *Terminalia catappa* leaves and seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5343-5348.
- Kou, D., & Mitra, S. 2003. Extraction of semi volatile organic compounds from solid matrices. Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry, 7: 139-182.
- Lin, C. C., & Lin, C. S. 2004. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing whit tea extracts. *Journal of Food Chemistry*, 16: 169-175.
- Malecka, M. 2002. Antioxidant properties of the unsaponifiable matter isolated from tomato seeds, oat grains and wheat germ oil. *Food Chemistry*, 79: 327-330.
- Malekian, F., Rao, R. M., Prinyawiwatkul, W., Marshall, W. E., Windhauser, M., & Ahmedna, M. 2000. Lipase and lipoxygenase activity, functionality, and nutrient losses in rice bran during storage. Louisiana Agricultural Experiment Station, Louisiana State University Agricultural Center.
- Molero Gómez, A., Martínez De La Ossa, E. 2000. Quality of wheat germ oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77: 969-974.
- Motalebi, A. A., & Seyfzade, M. 2011. Effects of whey protein edible coating on bacterial, chemical and sensory characteristics of frozen common kilka (*Clupeonelladelitula*). *Iranian journal of Fisheries Sciences*, 11: 132-144.
- Nazemi, M., Khoshkhoo, Z., Motalebi, A., & Firozjaee, H. K. 2010. Identification nonpolar component and antibacterial activities of *Iophon laevistylus* from Persian Gulf. *International Journal of Environmental Science and Development*, 1: 107-110.
- Owen, R. W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalter, B., & Bartsch, H. 2000. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids,

- lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*, 38: 647-659.
- Pazhouhanmehr, S., Farhoosh, R., Esmailzadeh Kenari, R., & Sharif, A. 2015. Oxidative stability of purified common Kilka (*Clupeonella cultiventris caspia*) oil as a function of the bene kernel and hull oils. *International Journal of Food Science & Technology*, 50: 396-403.
- Panfili, G., Cinquanta, L., Fratianni, A., & Cubadda, R. 2003. Extraction of wheat germ oil by supercritical CO₂: oil and defatted cake characterization. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80: 157-161.
- Pirestani, S., Sahari, M., Barzegar, M., Nikoopour, H. 2010. Lipid, cholesterol and fatty acid profile of some commercially important fish species from south Caspian Sea. *Journal of Food Biochemistry*, 34: 886-895.
- Schwartz, H., Ollilainen, V., Piironen, V., & Lampi, A. M. 2008. Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 152-161.
- Simopoulos, A. P. 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70: 560-569.
- Schwartz, H., Ollilainen, V., Piironen, V., & Lampi, A. M. 2008. Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 152-161.
- Takagi, S., Ienaga, H., Tsuchiya, C., & Yoshida, H. 1999. Microwave roasting effects on the composition of tocopherols and acyl lipids within each structural part and section of a soya bean. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1155-1162.
- Uquiche, E., Jeréz, M., & Ortíz, J. 2008. Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*Gevuina avellana* Mol). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 495-500.
- Yoshida, H., Tomiyama, Y., Hirakawa, Y., & Mizushima, Y. 2006. Microwave roasting effects on the oxidative stability of oils and molecular species of triacylglycerols in the kernels of pumpkin (*Cucurbita* spp.) seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 330-339.
- Yu, L., Scanlin, L., Wilson, J., and Schmidt, G. 2002. Rosemary extracts as inhibitors of lipid oxidation and color change in cooked turkey products during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 67: 582-585.



Effect of wheat germ oil extracted with microwave pretreatment on the oxidative stability of common Kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) oil

M. T. Golmakani^{1*}, M. Mousavi Nasab², M. Keramat³, A. Azhand⁴

Received: 2017.09.19

Accepted: 2018.01.24

Introduction: Wheat germ is a by-product of wheat milling industry. It contains about 11% oil. Wheat germ oil is well known as a tocopherol rich food lipid. It also contains more than 55% polyunsaturated fatty acids, mainly linoleic and alpha-linolenic acid (Simopoulos 1999; Schwartz *et al.* 2008). Wheat germ processing presents challenges due to its high content of bioactive compounds. Microwave-assisted extraction is a new extraction technology used for the extraction of bioactive compounds, which is based on combination of microwave and conventional solvent extraction. This technique which is used has many advantages such as short time, less solvent usage, and higher extraction yield (Hao *et al.* 2002). Common Kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) oil is considered as one of the most healthy and functional oils. It is highly rich in polyunsaturated ω -3 fatty acids such as eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. However, Kilka oil is highly vulnerable to oxidation due to its high content of poly unsaturated fatty acids. Oxidations of poly unsaturated fatty acids such as eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid result in a number of oxidation products that have negative impacts on the flavor and odor of Kilka oil, and also can affect the amount of these fatty acids that are made available to the body (Lin and Lin 2004; Fazli *et al.* 2009; Pazhouhanmehr *et al.* 2015; Yu *et al.* 2002). In order to preserve polyunsaturated fatty acids of Kilka oil from oxidative degradation, the use of novel and effective antioxidants can offer methods to maintain the health of consumers. The objective of this study was to investigate the effect of microwave-assisted extraction method on extraction yield and some chemical characteristics of wheat germ oil in comparison with conventional Soxhlet method. Also, wheat germ oil was investigated as a natural antioxidant for improving oxidative stability of Kilka oil.

Materials and methods: Wheat germ used in this research was supplied from Sepidan Flour Mill (Shiraz, Iran). Crude Kilka oil with no added antioxidants was supplied by a local fishery factory (Rasht, Iran). Wheat germ samples were pretreated with microwave at 200 W for 5 min. Thereafter, the samples were extracted with Soxhlet method. Samples were analyzed at 2, 4, 6, 8, and 10 h of extraction process. Extraction yield, saponification value, acid value, iodine value, and fatty acid profile of wheat germ oil extracted with microwave-assisted method were compared with those extracted with conventional Soxhlet method. Fatty acid composition of wheat germ oil was determined according to the method described by Golmakani *et al.* (2012) with some modifications. Saponification, acid, and iodine values of wheat germ oil were determined by using the AOAC official methods (AOAC 2000). Wheat germ oil was added to Kilka oil at a concentration of 1000 ppm. For the control, Kilka oil without any added antioxidant was used. Peroxide, anisidine, and Totox values of wheat germ oil were measured during 15 days storage at 60 °C. Peroxide, anisidine, and Totox values of wheat germ oil were determined using the AOCS official

1. Associate Professor of Food Science and Technology Department, School of Agriculture, Shiraz University.
 2. Professor of Food Science and Technology Department and Seafood Processing Research Group, School of Agriculture, Shiraz University.
 3. PhD Student of Food Science and Technology Department, School of Agriculture, Shiraz University.
 4. Graduated MSc Student of Food Science and Technology Department, School of Agriculture, Shiraz University.
- (*Corresponding Author Email: golmakani@shirazu.ac.ir)

methods (AOCS 2000). Induction period was considered as the number of days required for a sample to reach a PV of 20 meq O₂/kg (Keramat *et al.* 2016).

Results and discussion: The microwave-assisted extraction method increased the extraction yield of wheat germ oil by 15-27%. Increase in extraction yield is due to cell membrane rupture by microwave which results in greater porosity, enabling the passage of oil from the cell membrane (Uquiche *et al.* 2008). The amounts of saturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, and polyunsaturated fatty acids in samples extracted by microwave-assisted extraction method were similar to those extracted by conventional Soxhlet method. Acid value of samples extracted by microwave-assisted extraction method was slightly higher than those extracted by conventional Soxhlet method. This result is in agreement with the previous studies (Kiralan *et al.* 2014; Uquiche *et al.* 2008). The saponification value of wheat germ oil sample extracted by microwave-assisted extraction method was 9.65% higher than those extracted by conventional Soxhlet method. Thus, wheat germ oil sample extracted by microwave-assisted extraction method contained higher short chain fatty acids than those extracted by conventional Soxhlet method. The iodine value of wheat germ oil sample extracted by microwave-assisted extraction method was lower than those extracted by conventional Soxhlet method. Accordingly, microwave-assisted extraction method has a positive effect on the oxidative stability of wheat germ oil. Wheat germ oil significantly decreased the peroxide, anisidine, and Totox values of Kilka oil by 61.59%, 65.01%, and 61.97%, respectively, compared to the control. The induction period and protection factor of Kilka oil sample containing wheat germ oil (120.20 h and 1.42, respectively) was significantly higher than those of control sample (84.40 h and 1.00, respectively). The inhibitory effect of wheat germ oil against Kilka oil oxidation can be attributed to the presence of high amounts of biological active compounds. Based on the results of this study, microwave extracted wheat germ oil can be proposed as a natural antioxidant for improving oxidative stability of Kilka oil.

Keywords: Extraction, Kilka oil, Microwave, Oxidative stability, Wheat germ oil



سینتیک تخریب ویتامین C (L-آسکوربیک اسید) طی بلانچینگ خشک مادون قرمز و آزدایی همزمان برش‌های سیب با روش حرارت‌دهی متناوب

حسن صباغی¹ - امان محمد ضیائی فر² - مهدی کاشانی‌نژاد³

تاریخ دریافت: 1396/09/07

تاریخ پذیرش: 1396/11/02

چکیده

L-آسکوربیک اسید (ویتامین C) مهم‌ترین ویتامین از نظر تغذیه‌ای است. پلی‌فنل‌های سیب بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهند و حفظ کیفیت تغذیه‌ای سیب در فرآوری حرارتی اهمیت دارد. عملیات همزمان بلانچینگ خشک مادون قرمز و آزدایی (SIRDBD) با روش حرارت‌دهی متناوب فرآیندی نوین است که طی آن دما ثابت نگه داشته می‌شود. در این پژوهش، تأثیر دمای پرتودهی و ضخامت محصول روی نابودی پلی‌فنل اکسیداز (عامل قهوه‌ای شدن آنزیمی) و ویتامین C بررسی شد. بدین منظور، برش‌های سیب با ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متر و با قطر 20 میلی‌متر آماده شد. پرتودهی در سه دمای سطحی ثابت برابر با 70، 75 و 80°C انجام گرفت. دمای مرکز محصول حین فرآوری ثبت شد. فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO) و محتوی آسکوربیک اسید به ترتیب با فاصله زمانی 2 و 30 دقیقه سنجیده شد. سینتیک تخریب ویتامین C مطالعه گردید. نتایج نشان داد که زمان غیرفعال‌سازی آنزیم در دمای 80°C به‌طور معنی‌داری کمتر است ($P < 0/05$). در زمان کفایت بلانچینگ دمای مرکزی برای ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متر به ترتیب برابر با 61/7، 64/4 و 60/8°C بود. با افزایش دما یا ضخامت، ثابت سینتیک (k) تخریب ویتامین به‌طور معنی‌داری زیاد شد ($P < 0/05$). با افزایش ضخامت، وابستگی تخریب ویتامین به افزایش دما بیشتر بود (انرژی فعال‌سازی بیشتر). محتوی ویتامین C در ابتدای فرآیند در دماهای مختلف بسیار به هم نزدیک بود. بنابراین رویکرد دمای بالا و زمان کوتاه (HTST) طی مرحله بلانچینگ می‌تواند ضمن افزایش سرعت غیرفعال‌سازی آنزیمی، کیفیت تغذیه‌ای محصول را نیز حفظ نماید.

واژه‌های کلیدی: ویتامین C، سیب، بلانچینگ، مادون قرمز، پلی‌فنل اکسیداز

مقدمه

آسکوربیک اسید شکل فعال زیستی عمده آن می‌باشد (Hernández *et al.*, 2006). این ویتامین بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارد (Franke *et al.*, 2004). میزان توصیه شده روزانه⁴ (RDA) برای مصرف ویتامین C در بزرگسالان حدود 60 میلی‌گرم در روز است. یکی از مهمترین عوامل موثر در تغییرات کیفی میوه‌ها طی حرارت‌دهی و خشک‌کردن از دست رفتن ویتامین‌های محلول در آب (به‌طور عمده ویتامین C) است. مشخص شده است که طی خشک‌کردن 10 تا 50 درصد آسکوربیک اسید اتلاف می‌شود (Timoumi *et al.*, 2007). بنابراین این ماده یک ترکیب بسیار حساس به حرارت⁵ است که تخریب آن به‌صورت هوازی و غیرهوازی صورت می‌گیرد (Vieira *et al.*, 2000). نرخ تخریب اسید آسکوربیک به شرایط محیطی مانند دما و فعالیت آبی وابسته است. مشخص شده است که در صورت حفظ ویتامین C در ماده غذایی، سایر ترکیبات مغذی نیز حفظ خواهند شد. بنابراین این

میوه‌ها نقش مهمی در رژیم غذایی انسان و تغذیه با توجه به رنگ، عطر، طعم و به‌ویژه ویتامین‌ها دارند (Timoumi *et al.*, 2007). سیب به‌عنوان یک میوه پرمصرف در رژیم غذایی شناخته می‌شود. پلی‌فنل سیب در میان میوه‌ها و سبزیجات دیگر بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را با مهار رادیکال‌های آزاد دارد که این امر خطر ابتلا به سرطان را کاهش می‌دهد. بنابراین حفظ خصوصیات تغذیه‌ای سیب در فرآوری حرارتی اهمیت زیادی دارد (Vega-Desai & Park, 2010; López *et al.*, 2010; Gálvez *et al.*, 2012). ویتامین C به‌عنوان یک ترکیب فنلی مهمترین ویتامین از نظر تغذیه‌ای است که بدن انسان قادر به سنتز آن نیست و L-

1 و 2 - به ترتیب دانش‌آموخته دکتری، دانشیار و استاد، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

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

DOI: 10.22067/iftstr.v14i5.69053

⁴ Recommended daily allowance

⁵ Thermolabile

ترکیب به عنوان شاخص کیفیت تغذیه‌ای¹ طی فرآوری مواد غذایی در نظر گرفته می‌شود (Uddin et al., 2002).

یکی از فرآیندهای نوین در صنعت غذا، عملیات همزمان بلانچینگ خشک مادون قرمز و آبزدایی² (SIRDBD) میوه‌ها و سبزیجات می‌باشد که موجب افزایش کیفیت محصول نهایی می‌گردد (Zhu et al., 2010). یکی از اثرات مثبت بلانچینگ، کمک به تاخیر از دست رفتن ویتامین‌ها است (De Corcuera et al., 2004). تاثیر حرارت‌دهی مادون قرمز روی تخریب آسکوربیک اسید کمتر مورد توجه قرار گرفته است (Santos & Silva, 2008). بلانچینگ و آبزدایی همزمان مادون قرمز به دو روش مداوم و متناوب امکان‌پذیر است. در حین حرارت‌دهی مداوم³، شدت تابش و در حرارت‌دهی متناوب⁴ دمای سطحی محصول ثابت نگه داشته می‌شود. مزیت پرتودهی متناوب ذخیره انرژی و بهبود کیفیت محصول است (Zhu & Pan, 2009). بیش بلانچینگ⁵ موجب افت کیفیت و از بین رفتن مواد مغذی و به خصوص ویتامین‌ها می‌گردد. بنابراین، شرایط دقیق فرآیند (زمان و دما) با هدف جلوگیری از بیش‌فرآوری⁶ تعیین می‌گردد. برای این منظور، عواملی مانند دستیابی به دمای مرکزی خاص، دستیابی به سطح خاصی از غیرفعال‌سازی آنزیمی و حفظ یک نسبت مشخص از ویتامین C در نظر گرفته می‌شود. این امر تحت تاثیر خصوصیات بیوفیزیکی میوه و همچنین اندازه و شکل قطعات محصول می‌باشد (Grandison, 2006).

Timoumi و همکاران (2007) تاثیر دمای خشک کردن مادون قرمز را روی تخریب ویتامین C در محصول سیب بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد، ثابت سرعت تخریب ویتامین C با افزایش دما در محدوده 70-40 درجه سانتی‌گراد زیاد شد. آن‌ها تاثیر ضخامت را در نظر نگرفتند.

Vishwanathan و همکاران (2013) باقی‌مانده ویتامین C را در فرآیند حرارت‌دهی مادون قرمز و هوای داغ به صورت ترکیبی (هیبرید⁷) برای برش‌های هویج بررسی کردند. باقی‌مانده ویتامین C محلول در آب در هویج‌های بلانچ شده با تابش مادون قرمز بالاتر (62 درصد) از روش بخار (49 درصد) و آب (43 درصد) بود. این مطالعه پتانسیل کاربرد بلانچینگ خشک مادون قرمز را در بهبود کیفیت محصولات غذایی و سبزیجات تأیید نمود.

Marfil و همکاران (2008) سینتیک تخریب آسکوربیک اسید را طی خشک کردن گوجه‌فرنگی با روش‌های مختلف خشک کردن بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند که افزایش دما منجر به افزایش نرخ تخریب گردید. Erenturk و همکاران (2005) تخریب ویتامین C را طی خشک کردن هوای داغ میوه گل رز⁸ بررسی کردند. نتایج نشان داد که محتوی این ویتامین طی فرآیند تحت تاثیر زمان، دمای هوای و همچنین محتوی رطوبت محصول است.

Castro و همکاران (2004) سینتیک تخریب آسکوربیک اسید را طی حرارت‌دهی اهمیک⁹ توت فرنگی بررسی نمودند. نتایج نشان داد که تخریب ویتامین از مدل سینتیکی درجه اول برای حرارت‌دهی معمول و اهمیک پیروی می‌کند.

Verbeyst و همکاران (2013) مدل‌سازی تخریب ویتامین C طی فرآوری حرارتی و تیمار پرفشار در میوه قرمز¹⁰ را مطالعه کردند. آن‌ها از مدل تبدیل جزئی¹¹ برای توصیف تخریب ویتامین در شرایط هوایی استفاده نمودند. نتایج نشان داد که طی فرآوری حرارتی میوه‌ها کاهش غلظت اکسیژن پیش از فرآیند می‌تواند به حفظ ویتامین کمک نماید. همچنین مشخص شد، کاربرد فشار بالا و دمای بالا به طور همزمان در فرآوری از طریق کاهش زمان می‌تواند در تولید محصولی با سطح ویتامین بالا مناسب باشد.

در این پژوهش، در مرحله اول: زمان و دمای مناسب برای بلانچینگ خشک مادون قرمز جهت نابودی آنزیم پلی فنل‌اکسیداز (PPO) مشخص گردید. همچنین تغییرات دمایی مرکز محصول طی فرآوری ثبت شد و دمای مرکزی محصول در زمان کفایت بلانچینگ مشخص گردید. در مرحله دوم: مطالعه تغییرات محتوی ویتامین C طی پرتودهی انجام گرفت و تاثیر ضخامت برش و دمای پرتودهی روی نرخ تخریب آسکوربیک اسید بررسی شد. تاکنون سینتیک تخریب ویتامین C طی فرآیند نوین پرتودهی مادون قرمز با روش حرارت دهی متناوب (در دمای ثابت) برای ضخامت‌های مختلف سیب بررسی نشده است. این کار با هدف افزایش سرعت آنزیم‌بری برش‌های میوه ضمن حفظ کیفیت تغذیه‌ای انجام می‌گیرد. در این پژوهش روش ارزیابی کفایت بلانچینگ به عنوان یک روش ارزیابی سریع و کاربردی در صنعت مواد غذایی معرفی می‌گردد.

مواد و روش‌ها

سیب واریته زرد لبنانی¹² از بازار محلی خریداری گردید و مطابق Acevedo و همکاران (2008) در دمای 0 ± 1 درجه سانتی‌گراد و

⁸ Rosehip

⁹ Ohmic

¹⁰ Red Fruit

¹¹ Fractional conversion

¹² Golden delicious

¹ Nutrient quality

² Simultaneous infrared dry-blanching and dehydration

³ Continuous

⁴ Intermittent

⁵ Over-blanching

⁶ Over processing

⁷ Hybrid

جدول 1- زمان تقریبی فرآیند برای تیمارهای مختلف تا دستیابی به

وزن ثابت		
ضخامت (mm)	دما (°C)	زمان (min)
5	70	195
	75	165
	80	135
	70	300
	75	240
9	80	210
	70	420
	75	300
13	80	240

آماده سازی محلول های شیمیایی

- معرف کاتکول³: به منظور تهیه محلول 0/1 مولار کاتکول مقدار 1/1011 گرم از پودر کاتکول با 100 میلی لیتر آب مقطر در یک ارلن به حجم رسانیده شد.

- تیرانت 6،2-دی کلرو فنل اندوفنل⁴ (DCPIP): جهت آماده سازی (DCPIP) با غلظت 0/01 مولار، میزان 0/7252 گرم از شناساگر ۶،۲-دی کلرو فنل اندوفنل نمک سدیم منویدرات (وزن مولکولی = 290/08 گرم برمول) در یک ارلن 250 میلی لیتری با آب مقطر به حجم رسید. تیرانت روزانه تهیه شد و در ظرف شیشه ای تیره رنگ نگهداری گردید.

- محلول استاندارد آسکوربیک اسید: برای تهیه محلول 5 میلی مولار آسکوربیک اسید (وزن مولکولی = 176/13 گرم برمول) میزان 88/065 میلی گرم آسکوربیک اسید با 100 میلی لیتر آب مقطر در یک ارلن به حجم رسانیده شد. محلول استاندارد حاضر در یک ظرف تیره رنگ نگهداری گردید.

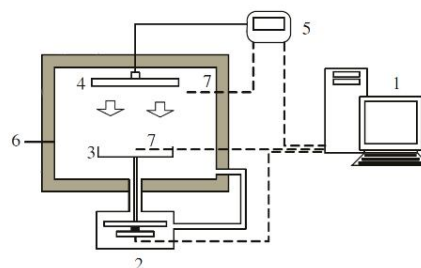
بررسی فعالیت آنزیمی

به منظور بررسی میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) و تأثیر آن روی رنگ محصول، برش های سیب با فاصله زمانی 2 دقیقه از دستگاه خارج شدند و زمان فرآیند تا عدم وقوع تغییر رنگ ناشی از افزودن معرف کاتکول ادامه یافت. عکس برداری از نمونه انجام شد. سپس روی سطح نمونه تحت تیمار مطابق روش Lee و همکاران (2002) مقدار 1 میلی لیتر معرف کاتکول اسپری شد و بلافاصله در دمای 25 درجه سانتی گراد (دمای محیط) به مدت 15 دقیقه قرار گرفت. مطابق شکل (2) فعالیت آنزیمی در حضور پیش ماده کاتکول تشدید می گردد و به صورت قهوه ای شدن نمونه

رطوبت نسبی 95-90 درصد نگهداری شد. قبل از هر فرآیند حرارتی، نمونه های سیب از سردخانه خارج شدند و پس از رسیدن به دمای محیط مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه ها به صورت دستی پوست گیری شدند و سپس در سه اندازه به صورت برش هایی با ضخامت 5، 9 و 13 میلی متر و با قطر 20 میلی متر آماده گردیدند. برش های سیب بلافاصله وارد عملیات همزمان بلانچینگ و خشک کردن مادون قرمز شدند.

سیستم خشک کن مادون قرمز

شکل (1) اجزای سیستم خشک کن اتوماتیک مادون قرمز مورد استفاده را مطابق سیستم Liu و همکاران (2014) نشان می دهد. این خشک کن شامل یک محفظه مکعب مستطیل بود. منبع تابش مادون قرمز از نوع سرامیکی با توان 1000 وات در داخل محفظه قرار داشت. دمای سطحی نمونه در محفظه خشک کن به طور مداوم با استفاده از ترموکوپل¹ نوع K و کنترل کننده منطقی برنامه پذیر² (PLC) کنترل شد. وزن نمونه طی فرآیند نیز به طور مداوم با استفاده از ترازوی حساس (ADAM, HCB 3001) با دقت 0/1 گرم تا دستیابی به وزن ثابت کنترل گردید. دمای مرکزی محصول نیز توسط ترموکوپل نوع K ثبت شد.



شکل 1- سیستم خشک کن مادون قرمز و لوازم آن، (1) کامپیوتر (2) ترازو (3) سینی نمونه (4) تابش کننده سرامیکی مادون قرمز (5) کنترل کننده منطقی برنامه پذیر (PLC) (6) محفظه خشک کن (7) ترموکوپل های نوع K

عملیات حرارت دهی متناوب

جهت عملیات حرارتی متناوب مطابق آنچه Zhu و همکاران (2010) انجام دادند، سه دمای سطحی ثابت برابر با 70، 75، 80 درجه سانتی گراد انتخاب شد. محدوده حداکثر زمان فرآیند برای دماها و ضخامت های آزمون تا رسیدن به وزن ثابت در جدول (1) ذکر شده است.

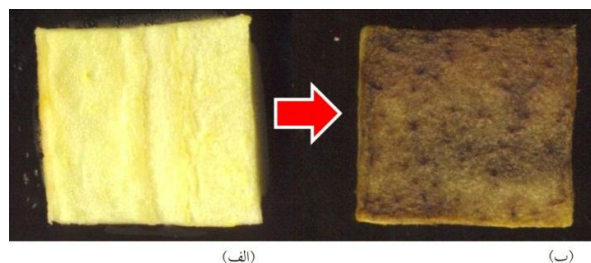
¹ Thermocouple

² Programmable Logic Controller

³ Catechol

⁴ 2,6-dichlorophenol-indophenol

بروز می‌نماید. عکس برداری از نمونه تغییر رنگ داده نیز انجام پذیرفت.



شکل 2- نمونه برش سیب 5 میلی متری حرارت داده شده در دمای 70 درجه سانتی گراد به مدت 30 دقیقه (الف)، تشدید فعالیت آنزیمی و تغییر رنگ نمونه در اثر اسپری محلول کاتکول و رنگ نهایی بعد از 15 دقیقه در دمای 25 درجه سانتی گراد (ب)

عکس برداری

عکس برداری از برش های سیب با استفاده از یک اسکنر مسطح (HP Scanjet G2710) ساخت ایالات متحده آمریکا مطابق با روش Romani و همکاران (2009) انجام شد. نمونه های تحت تیمار روی اسکنر قرار گرفته و سپس از یک جعبه سیاه جهت ممانعت از دخالت نورهای محیطی و بازتابش نور استفاده شد. تصاویر با کیفیت 300 dpi و فرمت TIFF-24 bit تهیه شد.

آنالیز رنگ

تجزیه و تحلیل رنگ در تصاویر به دست آمده، در فضای رنگی $L^*a^*b^*$ با استفاده از پلاگین تبدیل فضای رنگ¹ توسط نرم افزار ImageJ نسخه 1.6.0 انجام شد.

اندیس قهوه ای شدن

اندیس قهوه ای شدن نمونه قبل از استفاده از معرف کاتکول (BI_0) و در حضور پیش ماده کاتکول (BI_c) مطابق روش Maskan (2001) از رابطه (1) محاسبه شد. متغیر x در این معادله از رابطه (2) حساب می گردد. اختلاف میان اندیس قهوه ای شدن ($\Delta BI = BI_c - BI_0$) به عنوان شاخصی از باقی مانده فعالیت آنزیمی محاسبه شد. در نهایت، زمان مورد نیاز برای آنزیم بری تا دستیابی به اختلاف صفر میان اندیس های قهوه ای شدن ($\Delta BI = 0$) در نظر گرفته شد.

(1)

$$BI = \frac{[100(x - 0.31)]}{0.17} \quad (2)$$

$$x = \frac{(a + 1.75L)}{(5.645L + a - 3.012b)}$$

آماده سازی نمونه برای سنجش ویتامین C

جهت انجام سنجش ویتامین C نیز نمونه های آزمایشی با فاصله زمانی 30 دقیقه از خشک کن خارج شدند و زمان تا دستیابی به وزن ثابت ادامه یافت. ابتدا در یک هاون چینی نمونه فرآوری شده به قطعات ریزتر تبدیل شد و حدود 10 میلی لیتر آب مقطر در حین خرد شدن نمونه به آن اضافه گردید. هر بار عصاره استخراج شده به یک ارلن 100 میلی لیتری منتقل شد. در نهایت پالپ خرد شده میوه از میان یک توری² فشرده گردید و با 10 میلی لیتر آب مقطر در ارلن شستشو داده شد. در نهایت، حجم مایع استخراج شده در ارلن با آب مقطر به 100 میلی لیتر رسید.

استانداردسازی ۶،۲-دی کلرو فنل اندوفنل

جهت استانداردسازی، میزان 5 میلی لیتر از محلول استاندارد آسکوربیک اسید در ارلن ریخته شد و در pH برابر با 3 با استفاده از اگزالیک اسید 2 درصد تنظیم شد. با انجام تیتراسیون و مشخص بودن غلظت آسکوربیک اسید (M_{VitC}) و حجم آن (V_{VitC}) و همچنین مشخص شدن حجم تیترانت مصرفی (V_{DCPIP}) مطابق رابطه (3) غلظت واقعی تیترانت (M_{DCPIP}) محاسبه گردید.

$$M_{DCPIP} \times V_{DCPIP} = M_{VitC} \times V_{VitC} \quad (3)$$

اندازه گیری ویتامین C

اندازه گیری محتوی ویتامین C در نمونه های فرآوری شده مشابه Timoumi و همکاران (2007) انجام گرفت. این کار با استفاده از روش تیتراسیون با استفاده از ۶،۲-دی کلرو فنل اندوفنل (DCPIP) صورت گرفت. مطابق با بیان Hossu و Magearu (2004) مزیت این روش نسبت به تیتراسیون توسط محلول ید این است که در تیتراسیون با محلول ید از معرف نشاسته استفاده می شود که واکنش

² Cheesecloth

¹ Color space convertor

شد.

مدل سازی سینتیک تخریب ویتامین C

مدل سازی سینتیک تخریب ویتامین C مطابق روش Timoumi و همکاران (2007) انجام شد. این مدل به صورت رابطه (6) قابل تعریف است. در این رابطه، C محتوی ویتامین را نشان می دهد و k ثابت سینتیکی تخریب می باشد. با انتگرال گیری از این رابطه بین زمان صفر و هر لحظه از فرآیند معادله نوشته شده در رابطه (7) به دست می آید.

$$-\frac{dC}{dt} = kC^n \quad (6)$$

$$\ln \left(\frac{C}{C_0} \right) = -kt \quad (7)$$

مدل آرنیوس

مشابه روش ژائو و همکاران (2014)، ارتباط ثابت سینتیکی تخریب ویتامین (k) با دمای فرآیند در ضخامت های مختلف محصول با استفاده از شکل خطی معادله آرنیوس⁴ مطابق رابطه (12) بررسی شد. k نشان دهنده پارامتر مورد مطالعه یعنی ثابت سینتیکی تخریب ویتامین می باشد. E_a نشان دهنده انرژی فعال سازی بر حسب J.mol⁻¹ و R ثابت جهانی گازها برابر با 8/309 J.mol⁻¹.K⁻¹ می باشد. T دمای مطلق بر حسب کلون است.

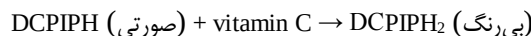
$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{RT} \quad (8)$$

برازش

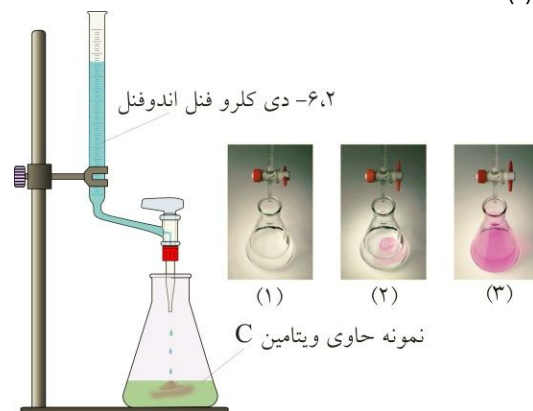
برازش مدل ها با استفاده از جعبه ابزار برازش منحنی⁵ در نرم افزار MATLAB نسخه 2009 و با سطح اطمینان 95 درصد (P<0/05) انجام شد. جهت ارزیابی و مقایسه مدل ها، مطابق Krokida و همکاران (1998) از ضریب همبستگی تصحیح شده⁶ (Adj.R²) و ریشه میانگین مربعات خطا⁷ (RMSE) به ترتیب مطابق رابطه (9) و رابطه (10) استفاده شد. در این روابط، O و P به ترتیب مقدار مشاهده شده و مقدار پیش بینی شده است. n تعداد مشاهده و p تعداد پارامترهای مدل می باشد.

$$Adj.R^2 = R^2 - \frac{p-1}{n-p}(1-R^2) \quad (9)$$

تیترانت را با اسید آسکوربیک کند می نماید و از دقت تیتراسیون کاسته می گردد. مطابق شکل (3) که نحوه انجام تیتراسیون را نشان می دهد، نقطه پایانی تیتراسیون زمانی خواهد بود که رنگ صورتی به مدت 15 ثانیه در محلول پایدار باقی بماند (رابطه 4). با استفاده از رابطه (3) غلظت آسکوربیک اسید محاسبه شد. در نهایت، محتوی آسکوربیک اسید (C) بر حسب گرم مطابق با رابطه (5) محاسبه گردید. در این رابطه n_{VitC} و MW_{VitC} به ترتیب نشان دهنده تعداد مول و وزن مولکولی آسکوربیک اسید است.



$$C = n_{\text{VitC}} \times MW_{\text{VitC}} = M_{\text{VitC}} \times V_{\text{VitC}} \times MW_{\text{VitC}} \quad (5)$$



شکل 3- مراحل تیتراسیون با استفاده از ۶،۲ دی کلرو فنل اندوفنل جهت اندازه گیری ویتامین C، آغاز تیتراسیون (1)، حین تیتراسیون (2)، نقطه پایانی تیتراسیون (3)

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

تجزیه و تحلیل آماری در نرم افزار SPSS نسخه 19 انجام گرفت. بدین منظور، برای بررسی زمان مورد نیاز برای آنزیم بوری از طرح کاملاً تصادفی¹ (CRD) در قالب فاکتوریل² (3²) با در نظرگیری دو فاکتور ضخامت (در سه سطح) و دما (در سه سطح) استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری ثابت سینتیکی تخریب ویتامین (k) نیز به صورت طرح بلوک های کامل تصادفی² (RCBD) انجام گرفت که طی آن دما به عنوان بلوک و ضخامت به عنوان تیمار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین به صورت آزمون دانکن³ با سطح اطمینان 95 درصد (P<0/05) انجام گرفت. کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام

⁴ Arrhenius equation

⁵ Curve fitting toolbox

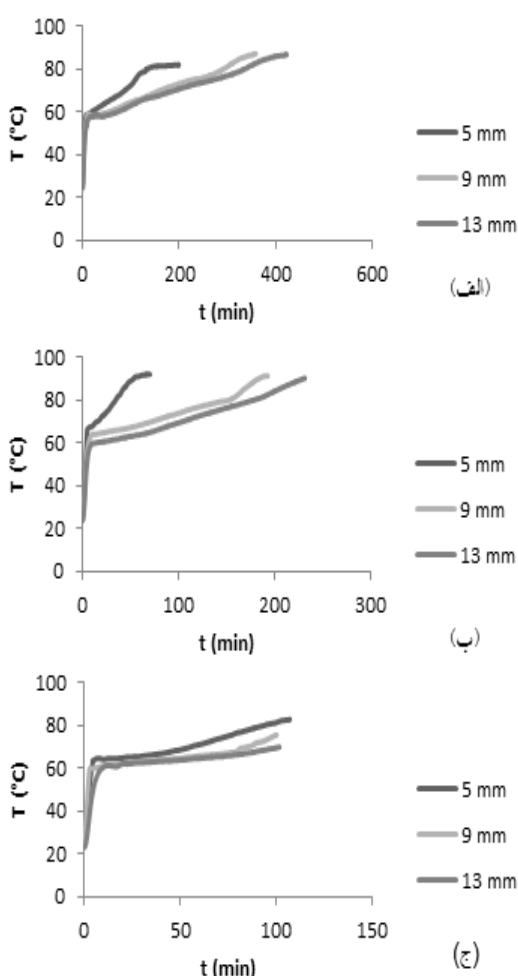
⁶ Adjusted R-squared

⁷ Root mean squared error

¹ Completely randomized design

² Randomized complete block design

³ Duncan test



شکل 4- تغییرات دمای مرکزی برش‌های سبب در ضخامت مختلف طی پرتودهی متناوب مادون قرمز در دمای سطحی ثابت 70 درجه سانتی‌گراد (الف)، 75 درجه سانتی‌گراد (ب)، 80 درجه سانتی‌گراد (ج)

غیرفعال‌سازی آنزیم پلی فنل اکسیداز

چگونگی روند آنزیم‌بری طی حرارت‌دهی با پرتودهی مادون قرمز در شکل (5) نشان داده شده است (ضخامت 5 میلی‌متر). غیرفعال‌سازی آنزیمی با افزایش زمان حرارت‌دهی افزایش یافت و زمان مورد نیاز برای بلانچینگ با افزایش دما کوتاه‌تر شد. این مشاهده با گزارش Bai و همکاران (2013) سازگار است. دمای 80 درجه سانتی‌گراد از سرعت مناسبی در آنزیم‌بری برخوردار است. در دمای 80 درجه سانتی‌گراد برای ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متر در زمان کفایت بلانچینگ دمای مرکز محصول به ترتیب برابر با 64/4، 61/7 و 60/8 درجه سانتی‌گراد بود.

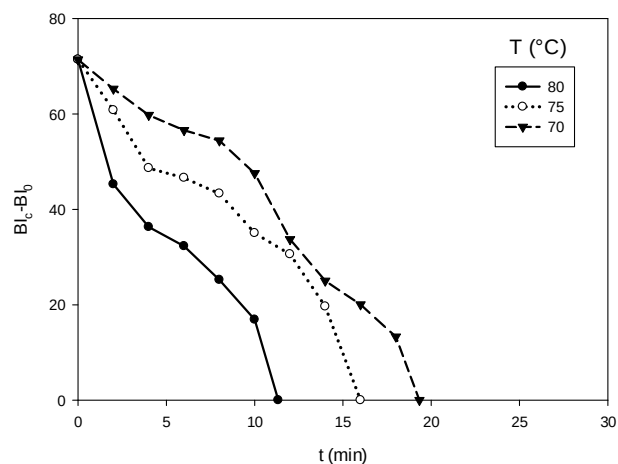
$$RMSE = \sqrt{\frac{(O - P)^2}{n - p}} \quad (10)$$

نتایج و بحث

تغییرات دمای مرکز محصول طی پرتودهی مادون قرمز

شکل (4) تغییرات دمای مرکزی برش‌های سبب در ضخامت‌های مختلف مورد آزمون را طی پرتودهی متناوب مادون قرمز نشان می‌دهد. پس از تعیین زمان مناسب آنزیم‌بری، از نمودارهای دمایی می‌توان در تعیین کفایت آنزیم‌بری استفاده کرد. مطابق شکل (4-الف) و (4-ب) تغییرات منحنی دمایی برای ضخامت 5 میلی‌متری در دمای پایین نسبت به دو ضخامت 9 و 13 میلی‌متری سریع‌تر مشاهده شد. اما با افزایش دمای فرآوری به دمای 80 درجه سانتی‌گراد تاثیر ضخامت در شکل منحنی دمایی کمتر شد و ضخامت‌های مختلف تقریباً شکل یکسانی از پروفیل دمایی را نشان دادند (شکل 4-ج). Tanaka و همکاران (2007) بیان کردند که پس از گذشت مدتی از شروع فرآیند دما در مرکز محصول به آهستگی افزایش می‌یابد که این امر می‌تواند به دلیل مقاومت گرمایی داخلی¹ محصول باشد. Lewicki و Nowak (2004) بیان کردند که دمای برش‌های سبب بستگی به مقدار آب موجود در آن دارد. در ابتدای فرآیند خشک کردن مادون قرمز دما با سرعت بالایی افزایش یافته و سپس افزایش سریع دما متوقف می‌شود. این مدت زمان حدود 10-11 دقیقه می‌باشد و طی آن 10 درصد رطوبت محصول تبخیر خواهد شد و در پایان فرآیند دمایی نهایی محصول بستگی به فاصله بین تشعشع کننده مادون قرمز و سطح محصول دارد. Meeso و همکاران (2007) علت افزایش سریع دما در لایه‌های تحت پرتودهی مادون قرمز را نفوذ مستقیم انرژی مادون قرمز به داخل محصول بیان کردند. در رابطه با ضخامت محصول نیز Lin و همکاران (2009) بیان نمودند که برش‌های ضخیم لایه هدایتی ضخیم‌تری دارند که می‌تواند رطوبت سطحی را برای مدت طولانی‌تری حفظ نماید و بنابراین شروع تغییرات دمایی با شیب ملایم‌تری مشاهده خواهد شد. Riadh و همکاران (2015) نیز گزارش کردند که زمان خشک کردن با کاهش ضخامت محصول و افزایش دمای فرآیند کمتر خواهد شد. Ni و Datta (2002) نیز حضور امواج مادون قرمز را عامل ثبت پروفایل دمای سطحی بیشتر معرفی کردند و عمق نفوذ امواج را با میزان دمای محصول مرتبط دانستند.

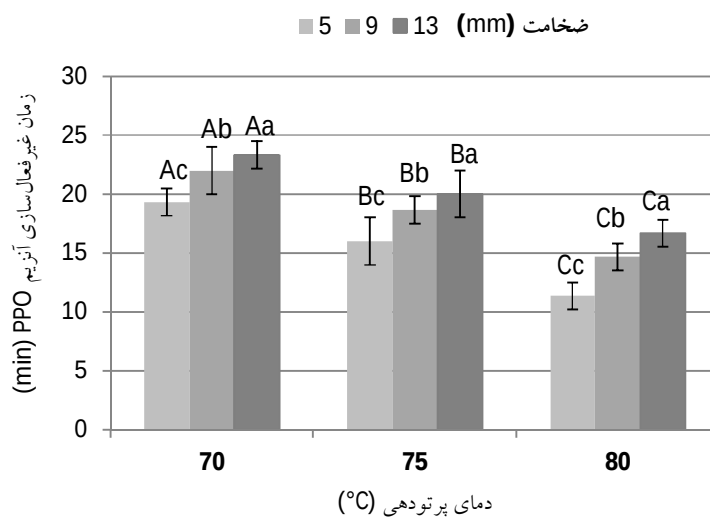
¹ Internal heat resistance



شکل 5- روند تغییرات آنزیم‌بری در دماهای مختلف پرتودهی تا عدم تغییر رنگ برش سیب با معرف کاتکول (ضخامت 5 میلی‌متر)

می‌دهد. همان‌طور که مشخص است، با افزایش دما یا کاهش ضخامت؛ زمان مورد نیاز برای غیرفعال‌سازی پلی‌فنل اکسیداز همواره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

شکل (6) مقایسه آماری میانگین زمان مورد نیاز جهت آنزیم‌بری برش سیب در ضخامت‌ها و دماهای مورد آزمون را نشان می‌دهد. جدول (2) نتایج تجزیه واریانس را برای این آنالیز آماری نشان



شکل 6- مقایسه آماری زمان مورد نیاز برای غیرفعال‌سازی کامل پلی‌فنل اکسیداز در تیمارهای مختلف
حروف لاتین بزرگ مقایسه بین دما و حروف لاتین کوچک مقایسه بین ضخامت‌ها را نشان می‌دهد ($P < 0/05$).

جدول 2- جدول ANOVA برای مقایسه تاثیر تیمارهای مورد آزمون روی مدت زمان مورد نیاز برای غیرفعال سازی کامل پلی فنل اکسیداز در برش های سیب ($P<0/05$)

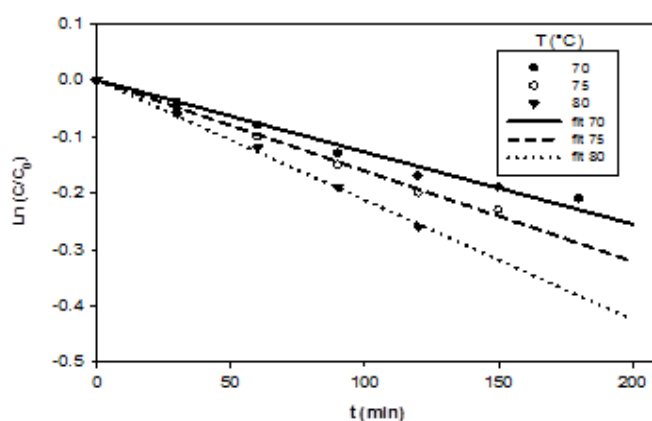
تیمار	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)	F	معنی داری (sig.)
مدل	9084/000	9	1009/333	454/200	0/0000
دما	242/667	2	121/333	54/600	0/0000
ضخامت	91/556	2	45/778	20/600	0/0000
دما×ضخامت (اثر متقابل)	1/778	4	0/444	0/200	0/935
خطا	40/000	18	2/222		
کل	9124/000	27			

سیب قرار می گیرد. در واقع، طی آبدایی پارانیشیم سیب چروکیده شده و این امر موجب افزایش اکسیژن در دسترس آنزیم در میکروساختارهای اطراف آن می گردد و این امر فعالیت پلی فنل اکسیداز را در غیاب غوطه وری در محلول اسمزی افزایش می دهد. در ارتباط با اثرگذاری فعالیت آنزیمی روی محتوی ویتامین C، Lloyd و Barrett (2012) بیان کردند که آنزیم های اکسیداتیو (پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز) ممکن است محتوی آسکوربیک اسید را تحت تاثیر قرار دهند، اگر چه ارزیابی نشده است. Oey و همکاران (2008) بیان کردند که به خصوص طی حرارت دهی آدیاباتیک عامل عمده تخریب ویتامین C اکسیداسیون است.

سینتیک تخریب ویتامین C

شکل (7) نمودار برازش مدل سینتیکی برای تخریب آسکوربیک اسید را در دماهای مختلف نمایش می دهد (ضخامت 5 میلی متر).

در همین راستا، Zhu و همکاران (2010) بیان کردند که به طور کلی طی پرتودهی مادون قرمز در برش نازک و/ یا دمای سطحی بالاتر غیرفعال سازی آنزیمی سریع تر خواهد بود. به گزارش Lin و همکاران (2009)، افزایش ضخامت موجب کاهش توزیع دمایی یکنواخت در داخل محصول می گردد. بسیاری از محققین نرخ حرارت دهی سریع و دما را به عنوان عاملی موثر در غیرفعال سازی آنزیم گزارش کردند (Bingol et al., 2015؛ Guiamba et al., 2015؛ Bingol et al., 2012؛ Jeevitha et al., 2013؛ Caronni و Lavelli, 2000؛ MacDonald & Schaschke, 2000). گزارش کردند که جهت فعالیت پلی فنل اکسیداز در سیب آبدایی شده، حد آستانه مورد انتظار برای فعالیت آبی برابر با بالای 0/32 با توجه به رنگ است. حضور اکسیژن می تواند موجب کاهش سرعت غیرفعال سازی آنزیمی طی بلانچینگ خشک گردد. Quiles و همکاران (2005) بیان کردند که واریته های مختلف سیب دارای الگوی فعالیت آنزیمی تقریباً مشابهی هستند و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تاثیر تغییرات میکروساختاری بافت پارانیشیم



شکل 7- برازش مدل سینتیکی تخریب آسکوربیک اسید در دماهای پرتودهی مختلف برای ضخامت 5 میلی متر

سینتیک تخریب ویتامین بیشتر شد و میان ضخامت 5 میلی متر با دو ضخامت مورد آزمون دیگر (9 و 13 میلی متر) اختلاف معنی دار وجود داشت. این نتایج با گزارشات بسیاری از پژوهشگران سازگاری دارد (Wu et al., 2010; Kaya et al., 2010; Mrad et al., 2012; Timoumi et al., 2007; Uddin; Chua et al., 2003; et al., 2001).

جدول (3) اطلاعات برازش مدل را روی داده های تجربی در تیمارهای مختلف به همراه مقایسه آماری میان ثابت های سینتیکی تخریب (k) نشان می دهد. جدول (4) نتایج تجزیه و تحلیل آماری از نظر تاثیر تیمارها بر ثابت سینتیک تخریب ویتامین را نشان می دهد. اختلاف میان دماهای مورد آزمون از نظر ثابت سینتیکی تخریب همواره معنی دار بود و با افزایش دما ثابت سینتیکی تخریب ویتامین زیاد شد. از نظر تاثیر ضخامت نیز، در ضخامت پایین برش ها ثابت

جدول 3- اطلاعات برازش مدل تخریب ویتامین C روی داده های تجربی در تیمارهای مختلف

ضخامت (mm)	دما (°C)	k	Adj.R ²	RMSE
5	70	-0/001275 ^{Ca}	0/9758	0/01237
	75	-0/001606 ^{Ba}	0/9944	0/006606
	80	-0/002122 ^{Aa}	0/9977	0/004916
9	70	-0/001152 ^{Cb}	0/9981	0/005043
	75	-0/001533 ^{Bb}	0/9953	0/008689
	80	-0/00196 ^{Ab}	0/9933	0/01191
13	70	-0/0011 ^{Cb}	0/9967	0/007898
	75	-0/00149 ^{Bb}	0/9953	0/0105
	80	-0/001900 ^{Ab}	0/989	0/01757

*حروف لاتین بزرگ مقایسه بین دماهای آزمون و حروف لاتین کوچک مقایسه بین ضخامت برش ها است.

* حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است ($P < 0/05$).

جدول 4- جدول ANOVA برای مقایسه تاثیر تیمارها روی ثابت تخریب ویتامین C برش های سیب ($P < 0/05$)

معنی داری (sig.)	F	میانگین مربعات (MS)	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	مدل
0/000	5716/209	$4/653 \times 10^{-6}$	5	$2/326 \times 10^{-5}$	ضخامت (تیمار)
0/004	28/350	$2/308 \times 10^{-8}$	2	$4/615 \times 10^{-8}$	دما (بلوک)
0/000	619/209	$5/040 \times 10^{-7}$	2	$1/008 \times 10^{-6}$	خطا
		$8/139 \times 10^{-10}$	4	$3/256 \times 10^{-9}$	کل
			9	$2/327 \times 10^{-5}$	

افزایش هر دو عامل زیاد خواهد شد. Magee و Mclaughlin (1998) نیز آسکوربیک اسید را در دمای پایین و فعالیت آبی کم پایدارتر دانستند. Sablani (2006) بیان کرد که آسکوربیک اسید در خشک کردن در زمان طولانی به آسانی تخریب خواهد شد و این ترکیب برخلاف کارتنوئیدها به زمان خشک کردن نسبت به دمای خشک کردن حساسیت بیشتری دارد (کاربرد دمای بالا و زمان کوتاه). Joshi و همکاران (2011) دلیل عمده اکسیداسیون آسکوربیک اسید تحت شرایط دمایی بالا و کاهش غلظت آن را مصرف ویتامین C به دلیل اثر محافظت کنندگی آن روی اکسیداسیون پلی فنل ها دانستند. در پژوهش حاضر نیز محتوی ویتامین نمونه در زمان کوتاه در دماهای مختلف به یکدیگر نزدیک بود (شکل 7- در زمان 30 دقیقه). بنابراین کاربرد دمای بالا و زمان

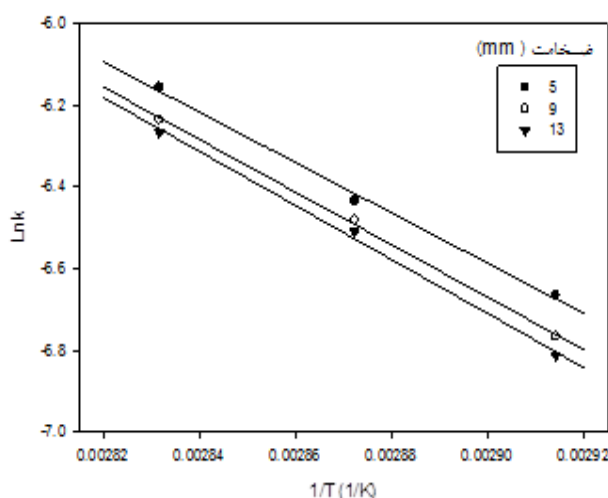
Santos و Silva (2008) بیان کردند که تخریب آسکوربیک اسید طی فرآیند خشک کردن وابسته به زمان، دما و رطوبت خواهد بود. در واقع، اثر محتوی رطوبت در ابتدای فرآیند غالب است و تاثیر دما با ادامه یافتن فرآیند بیشتر می گردد. افزایش میزان آب (افزایش ضخامت) موجب می گردد تا فاز آبی کمتر ویسکوز شود و این امر پدیده نفوذ و انتشار را در محصول افزایش می دهد که این اثر باعث تسهیل واکنش اکسیداسیون و تخریب آسکوربیک اسید خواهد شد. اگر چه در فعالیت آبی بالا ممکن است محتوی آب با رقیق کردن آسکوربیک اسید از نرخ تخریب آن بکاهد. بنابراین کنترل محتوی آب برای کنترل تخریب آسکوربیک اسید بسیار پیچیده است. این در حالی است که Singh و همکاران (1983) گزارش کردند که ثابت تخریب آسکوربیک اسید با افزایش دما یا افزایش فعالیت آبی یا

دما است. به عبارتی در ضخامت‌های بالا وابستگی تخریب آسکوربیک اسید به افزایش دما بیشتر خواهد بود. انرژی فعال‌سازی محاسبه شده در این پژوهش حدود 50 کیلوژول برمول بود که بیشتر از انرژی فعال‌سازی به‌دست آمده توسط Timoumi و همکاران (2007) است (حدود 15 کیلوژول بر مول). Lima و همکاران (2010) علت این امر را وابستگی بیشتر به دما دانستند. اگرچه ثابت سینتیکی تخریب ویتامین با آنچه Timoumi و همکاران (2007) گزارش کردند شباهت داشت ($0.8-1.4 \times 10^{-3}$ برحسب عکس دقیقه). پژوهشگرانی نیز انرژی فعال‌سازی برای تخریب آسکوربیک اسید را در محدوده 36-71 کیلوژول برمول گزارش کردند (Lima *et al.*, 2010; Uddin *et al.*, 2002).

کوتاه (HTST) ضمن افزایش سرعت عملیات آنزیم‌بری و نابودی آنزیم‌های اکسیداتیو می‌تواند در حفظ کیفیت محصول نیز مناسب باشد.

وابستگی تخریب ویتامین C به دما و ضخامت

شکل (8) برازش مدل خطی آرنیوس را روی لگاریتم طبیعی ثابت سینتیکی تخریب ویتامین نشان می‌دهد. اطلاعات برازش مدل خطی آرنیوس در جدول (5) نشان داده شده است. با افزایش ضخامت انرژی فعال‌سازی برای ثابت تخریب ویتامین افزایش یافت. Marfil و همکاران (2008) بیان کردند که انرژی فعال‌سازی بیشتر نشان‌دهنده وابستگی بیشتر نرخ واکنش تخریب آسکوربیک اسید به



شکل 8- لگاریتم طبیعی ثابت تخریب ویتامین C در برابر عکس دما در ضخامت مختلف برش سیب

جدول 5- اطلاعات برازش رابطه آرنیوس برای ثابت تخریب ویتامین C ضخامت‌های مختلف

ضخامت (mm)	$\ln(k_0)$	E_a (J.mol ⁻¹)	Adj.R ²	RMSE
5	11/31	51266/53	0/9922	0/0225
9	12/01	53526/58	0/9975	0/01322
13	12/51	55055/43	0/9939	0/02145

طرفی تغییرات محتوی ویتامین C در زمان‌های ابتدایی فرآیند پرتودهی برای دماهای مختلف، نزدیک به هم مشاهده شد. بنابراین رویکرد دمای بالا و زمان کوتاه (HTST) می‌تواند برای تسریع عملیات بلاتچینگ مادون قرمز مناسب باشد. پس از اعمال شرایط دمایی و زمانی مناسب برای نابودی آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، در صورت لازم می‌توان فرآیند آبزدایی را در دمای پایین‌تر ادامه داد تا کیفیت تغذیه‌ای برش‌های میوه از لحاظ محتوی ویتامین C حفظ گردد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، با هدف افزایش سرعت عملیات بلاتچینگ ضمن حفظ کیفیت تغذیه‌ای برش‌های میوه پرتودهی در دماهای ثابت مختلف بررسی شد. دماهای مورد آزمون در گستره دمایی بالا انتخاب شدند تا جهت آنزیم‌بری سریع مناسب باشند. نتایج این پژوهش نشان داد که زمان آنزیم‌بری در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌داری نسبت به دماهای دیگر مورد آزمون کمتر است و از

- Acevedo, N. C., Briones, V., Buera, P., & Aguilera, J. M. (2008). Microstructure affects the rate of chemical, physical and color changes during storage of dried apple discs. *Journal of Food Engineering*, 85(2), 222-231.
- Bai, J. W., Gao, Z. J., Xiao, H. W., Wang, X. T., & Zhang, Q. (2013). Polyphenol oxidase inactivation and vitamin C degradation kinetics of Fuji apple quarters by high humidity air impingement blanching. *International journal of food science & technology*, 48(6), 1135-1141.
- Barrett, D. M., & Lloyd, B. (2012). Advanced preservation methods and nutrient retention in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(1), 7-22.
- Bingol, G., Wang, B., Zhang, A., Pan, Z., & McHugh, T. H. (2014). Comparison of water and infrared blanching methods for processing performance and final product quality of French fries. *Journal of Food Engineering*, 121, 135-142.
- Bingol, G., Zhang, A., Pan, Z., & McHugh, T. H. (2012). Producing lower-calorie deep fat fried French fries using infrared dry-blanching as pretreatment. *Food Chemistry*, 132(2), 686-692.
- Castro, I., Teixeira, J., Salengke, S., Sastry, S., & Vicente, A. (2004). Ohmic heating of strawberry products: electrical conductivity measurements and ascorbic acid degradation kinetics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(1), 27-36.
- Chua, K., Mujumdar, A., & Chou, S. (2003). Intermittent drying of bioproducts—an overview. *Bioresource Technology*, 90(3), 285-295.
- Datta, A., & Ni, H. (2002). Infrared and hot-air-assisted microwave heating of foods for control of surface moisture. *Journal of Food Engineering*, 51(4), 355-364.
- De Corcuera, J. I. R., Cavalieri, R. P., & Powers, J. R. (2004). Blanching of foods Encyclopedia of agricultural, food, and biological engineering (pp. 1-5): Marcel Dekker, Inc New York.
- Desai, K., & Park, H. (2005). Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying. *Journal of microencapsulation*, 22(2), 179-192.
- Franke, A. A., Custer, L. J., Arakaki, C., & Murphy, S. P. (2004). Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(1), 1-35.
- Grandison, A. S. (2006). Postharvest handling and preparation of foods for processing. In: Brennan, J. G. and Grandison, A. S. (Eds.), *Food Processing Handbook*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, pp. 1-30.
- Guiamba, I. R., Svanberg, U., & Ahn, L. (2015). Effect of infrared blanching on enzyme activity and retention of β -carotene and vitamin C in dried mango. *Journal of Food Science*, 80(6).
- Hernández, Y., Lobo, M. G., & González, M. (2006). Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. *Food Chemistry*, 96(4), 654-664.
- Hossu, A., & Magearu, V. (2004). Determination of vitamin C in pharmaceutical products with physico-chemical and bioanalytical technics. *Romanian Biotechnological Letters.*, 9, 1497-1504.
- Jeevitha, G., Hebbar, H. U., & Raghavarao, K. (2013). Electromagnetic Radiation-Based Dry Blanching of Red Bell Peppers: A Comparative Study. *Journal of Food Process Engineering*, 36(5), 663-674.
- Joshi, A., Rupasinghe, H., & Khanizadeh, S. (2011). Impact of drying processes on bioactive phenolics, vitamin c and antioxidant capacity of red-fleshed apple slices. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35(4), 453-457.
- Kaya, A., Aydın, O., & Kolaylı, S. (2010). Effect of different drying conditions on the vitamin C (ascorbic acid) content of Hayward kiwifruits (*Actinidia deliciosa* Planch). *Food and Bioproducts Processing*, 88(2), 165-173.
- Krokida, M., Tsami, E., & Maroulis, Z. (1998). Kinetics on color changes during drying of some fruits and vegetables. *Drying Technology*, 16(3-5), 667-685.
- Lavelli, V., & Caronni, P. (2010). Polyphenol oxidase activity and implications on the quality of intermediate moisture and dried apples. *European Food Research and Technology*, 231(1), 93-100.
- Lee, M.-K., Kim, Y.-M., Kim, N.-Y., KIM, G.-N., KIM, S.-H., BANG, K.-S., & PARK, I. (2002). Prevention of browning in potato with a heat-treated onion extract. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 66(4), 856-858.
- Lima, J. R., Elizondo, N. J., & Bohuon, P. (2010). Kinetics of ascorbic acid degradation and colour change in ground cashew apples treated at high temperatures (100–180 °C). *International journal of food science & technology*, 45(8), 1724-1731.
- Lin, Y., Li, S., Zhu, Y., Bingol, G., Pan, Z., & McHugh, T. H. (2009). Heat and mass transfer modeling of apple slices under simultaneous infrared dry blanching and dehydration process. *Drying Technology*, 27(10), 1051-1059.
- Liu, Y., Zhu, W., Luo, L., Li, X., & Yu, H. (2014). A mathematical model for vacuum far-infrared drying of potato slices. *Drying Technology*, 32(2), 180-189.
- López, J., Uribe, E., Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Gonzalez, E., & Di Scala, K. (2010). Effect of air temperature on drying kinetics, vitamin C, antioxidant activity, total phenolic content, non-enzymatic browning and firmness of blueberries variety O Neil. *Food and Bioprocess Technology*, 3(5), 772-777.
- MacDonald, L., & Schaschke, C. J. (2000). Combined effect of high pressure, temperature and holding time on polyphenoloxidase and peroxidase activity in banana (*Musa acuminata*). *Journal of the Science of Food and*

- Agriculture*, 80(6), 719-724.
- Marfil, P., Santos, E., & Telis, V. (2008). Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 41(9), 1642-1647.
- Maskan, M. (2001). Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 48(2), 169-175.
- McLaughlin, C., & Magee, T. (1998). The effect of shrinkage during drying of potato spheres and the effect of drying temperature on vitamin C retention. *Food and Bioprocess Technology*, 76(3), 138-142.
- Meeso, N., Nathakaranakule, A., Madhiyanon, T., & Soponronnarit, S. (2007). Modelling of far-infrared irradiation in paddy drying process. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1248-1258.
- Mrad, N. D., Boudhrioua, N., Kechaou, N., Courtois, F., & Bonazzi, C. (2012). Influence of air drying temperature on kinetics, physicochemical properties, total phenolic content and ascorbic acid of pears. *Food and Bioprocess Technology*, 90(3), 433-441.
- Nowak, D., & Lewicki, P. P. (2004). Infrared drying of apple slices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(3), 353-360.
- Oey, I., Van der Plancken, I., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2008). Does high pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems? *Trends in Food Science & Technology*, 19(6), 300-308.
- Quiles, A., Hernando, I., Pérez-Munuera, I., Larrea, V., Llorca, E., & Lluch, M. (2005). Polyphenoloxidase (PPO) activity and osmotic dehydration in Granny Smith apple. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 1017-1020.
- Riadh, M. H., Ahmad, S. A. B., Marhaban, M. H., & Soh, A. C. (2015). Infrared heating in food drying: *An overview. Drying Technology*, 33(3), 322-335.
- Romani, S., Rocculi, P., Mendoza, F., & Dalla Rosa, M. (2009). Image characterization of potato chip appearance during frying. *Journal of Food Engineering*, 93(4), 487-494.
- Sablani, S. S. (2006). Drying of fruits and vegetables: retention of nutritional/functional quality. *Drying Technology*, 24(2), 123-135.
- Santos, P., & Silva, M. (2008). Retention of vitamin C in drying processes of fruits and vegetables—A review. *Drying Technology*, 26(12), 1421-1437.
- Singh, R., Lund, D., & Buelow, F. (1983). Storage stability of intermediate moisture apples: kinetics of quality change. *Journal of Food Science*, 48(3), 939-944.
- Tanaka, F., Verboven, P., Scheerlinck, N., Morita, K., Iwasaki, K., & Nicolai, B. (2007). Investigation of far infrared radiation heating as an alternative technique for surface decontamination of strawberry. *Journal of Food Engineering*, 79(2), 445-452.
- Timoumi, S., Mihoubi, D., & Zagrouba, F. (2007). Shrinkage, vitamin C degradation and aroma losses during infra-red drying of apple slices. *LWT - Food Science and Technology*, 40(9), 1648-1654. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2006.11.008
- Uddin, M., Hawlader, M., & Zhou, L. (2001). Kinetics of ascorbic acid degradation in dried kiwifruits during storage. *Drying Technology*, 19(2), 437-446.
- Uddin, M., Hawlader, M., Ding, L., & Mujumdar, A. (2002). Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. *Journal of Food Engineering*, 51(1), 21-26.
- Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Martínez-Monzó, J., García-Segovia, P., Di Scala, K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. *Granny Smith*) slices. *Food Chemistry*, 132(1), 51-59.
- Verbeyst, L., Bogaerts, R., Van der Plancken, I., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2013). Modelling of vitamin C degradation during thermal and high-pressure treatments of red fruit. *Food and Bioprocess Technology*, 6(4), 1015-1023.
- Vieira, M. C., Teixeira, A., & Silva, C. (2000). Mathematical modeling of the thermal degradation kinetics of vitamin C in cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) nectar. *Journal of Food Engineering*, 43(1), 1-7.
- Vishwanathan, K. H., Giwari, G. K., & Hebbar, H. U. (2013). Infrared assisted dry-blanching and hybrid drying of carrot. *Food and Bioprocess Technology*, 91(2), 89-94. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2012.11.004
- Wu, G.-C., Zhang, M., Mujumdar, A. S., & Wang, R. (2010). Effect of calcium ion and microwave power on structural and quality changes in drying of apple slices. *Drying Technology*, 28(4), 517-522.
- Zhu, Y., & Pan, Z. (2009). Processing and quality characteristics of apple slices under simultaneous infrared dry-blanching and dehydration with continuous heating. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 441-452. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.015
- Zhu, Y., Pan, Z., McHugh, T. H., & Barrett, D. M. (2010). Processing and quality characteristics of apple slices processed under simultaneous infrared dry-blanching and dehydration with intermittent heating. *Journal of Food Engineering*, 97(1), 8-16.



Degradation kinetic of vitamin C (L-ascorbic acid) during simultaneous infrared dry-blanching and dehydration of apple slices with intermittent heating method

H. Sabbaghi^{1*}, A. M. Ziaifar², M. Kashaninejad³

Received: 2017.11.28

Accepted: 2018.01.22

Introduction: L-Ascorbic acid (vitamin C) is the most important vitamin in terms of nutrition. Ascorbic acid is a thermolabile (heat-sensitive) compound that can be degenerated aerobically or anaerobically. The degradation rates of ascorbic acid differ with the changes in environmental conditions such as temperature and water activity. It is ascertained that the other nutrients residing in a food can be preserved in case the Vitamin C content is preserved. Thus, the compound is considered as the nutritional quality index during the food processing. The simultaneous infrared dry-blanching and dehydration (SIRDBD) with intermittent heating method is a novel process in which the temperature is kept constant. Over-blanching causes product quality decline and nutrients, especially vitamins, deterioration. Therefore, the precise process conditions (time and temperature) are specified with the objective of preventing over-processing. To do so, such factors as access to the specific center temperature, access to a certain level of enzymatic inactivation and preservation of a given ratio of Vitamin C should be taken into account. This is subject to the biophysical properties of fruits and slices size and shape. The aim of this study was to determine the appropriate operating conditions for blanching step. For this purpose, the effect of irradiation temperature and thickness of the product on the destruction of polyphenol oxidase (enzymatic browning agent) and vitamin C were investigated.

Materials and methods: Apple slices (*Golden Delicious* variety) were prepared with thickness of 5, 9 and 13 mm and 20 mm in diameter. Irradiation was carried out at three constant temperatures of 70, 75, and 80 ° C. The central temperature of the product was recorded during processing. To evaluate the enzymatic activity of polyphenol oxidase (PPO) and its effect on the product color, apple slices were removed from the device in 2- minute intervals and the process was continued till the time no sign of color change stemming from catechol reagent addition was observable. Vitamin C content measurement was carried out with 30-minute intervals during drying till apple slice reaches constant weight. It was performed based on titration by the use of 2, 6-Dichlorophenol-Indophenol (DCPIP). To calculate the browning index (BI) due to PPO activity, image acquisition was made with the use of a flatbed scanner. The treated samples were placed on the scanner and then a black box was utilized so as to prevent the interferences of the peripheral lights and light reflections. The images featured a 300 dpi quality and were saved in TIFF-24 bit format. Color analysis of the obtained images was carried out in color spaces $L^*a^*b^*$ by the use of “color space convertor” pelagin in ImageJ software, version 1.6.0. Statistical analyses were carried out in SPSS software, version 19. To do so and in order to assess the time required time for the blanching, there was made use of completely randomized design (CRD) in factorial format (3^2) considering two factors, namely thickness (in three levels) and temperature (in three levels). The statistical analyses of the vitamin degradation kinetic constant (k), as well, were conducted based on randomized complete block design (RCBD) in the course of which the

1, 2 and 3. Ph. D. Candidate, Associate Professor and Professor, Department of Food Processing Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources

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

temperature and thickness were considered as the block and the treatment, respectively. Mean comparisons were undertaken based on Duncan test in a 95% confidence level ($P < 0.05$). All experiments were performed in three replications.

Results & discussion: The results showed at the beginning of the IR drying process, the temperature increases rapidly and then it comes to a stop with the further passage of time. The temperature curve was reflective of faster variations for a thickness value of 5mm as compared to thicknesses 9mm and 13mm. But, with the increase in the processing temperature to 80°C, the thickness was found having less effect as depicted in the temperature curve and a similar temperature profile was evidenced for the various thicknesses in that temperature. The enzyme inactivation was found increased with the increase in heating time and the time required for blanching was decreased with the increase in temperature. In other words, enzyme inactivation time is significantly lower at 80 °C ($P < 0.05$). At sufficient time for blanching, the central temperature for the thickness of 5, 9 and 13 mm was 64.4, 61.7, and 60.8 °C, respectively. By increasing the temperature or thickness, kinetic constant (k) of vitamin degradation increased significantly ($P < 0.05$). With increasing the thickness, the temperature rising dependency of vitamin degradation elevated (greater activation energy). Vitamin C content variations were almost similar during the early radiation process for various temperatures. Hence, the high temperature-short time (HTST) approach was considered to be more appropriate for accelerating IR blanching operation. After the exertion of the temperature and time conditions appropriate for the annihilation of polyphenol oxidase, dehydration process can be, if necessary, continued in lower temperatures so as to preserve the nutritional quality of the fruit slices in terms of their Vitamin C content.

Keywords: Vitamin C, Apple, Blanching, Infrared, Polyphenol oxidase



ارزیابی اثر نایسین، استات سدیم و دما بر کیفیت فیله کپور علفخوار تلقیح شده با استافیلوکوکوس اورئوس

نادر چراغی¹ - ابراهیم علیزاده دوغیکلایی^{2*} - محسن شهریار ی مقدم³

تاریخ دریافت: 1396/09/10

تاریخ پذیرش: 1397/04/16

چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس عامل بیماری‌زای مهمی در بروز مسمومیت‌های غذایی می‌باشد. هدف این پژوهش بررسی اثر نایسین، سدیم استات و دما بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1189) در فیله کپور علفخوار با استفاده از طرح آزمایش تاگوچی با آرایه $L_4 (2^3)$ می‌باشد. فیله‌ها پس از تلقیح با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (10^3 CFU/g) و افزودن نایسین (750 و 1000 IU/g) و استات سدیم (1 و 2%) در دماهای (4 و 8 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. پارامترهای شیمیایی (پراکسید (PV)، تیوبار بیتوریک اسید (TBA) و مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)) و تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در روزهای صفر، 3، 6 و 9 اندازه‌گیری شدند. کمترین و بیشترین میزان PV، TBA و TVB-N به ترتیب در تیمار 2 (استات سدیم 2%)، نایسین 750 IU/g، دما 4 درجه سانتی‌گراد و تیمار 4 (استات سدیم 1%)، نایسین 750 IU/g، دما 8 درجه سانتی‌گراد در انتهای دوره نگهداری مشاهده گردید. نتایج شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در تیمار 4 نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار حاوی نایسین (750 IU/g)، استات سدیم (2%) و دما (4 درجه سانتی‌گراد) کارآمدی بیشتری در نگهداری فیله کپور علفخوار داشته در حالی که مدل‌سازی تاگوچی نایسین (1000 IU/g)، استات سدیم (2%) و دما (4 درجه سانتی‌گراد) را به‌عنوان شرایط بهینه نگهداری پیشنهاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: نایسین، سدیم استات، بافت، استافیلوکوکوس اورئوس، کپور علفخوار

مقدمه

در سال‌های اخیر کیفیت و سلامت مواد غذایی از دغدغه‌های اصلی مصرف‌کنندگان، صنایع غذایی و آژانس‌های جهانی بوده است. امروزه با توجه به ارزش غذایی بالای ماهی و دیگر غذاهای دریایی، مصرف آن‌ها در جیره غذایی انسان به‌صورت پیوسته افزایش یافته است (Hassoun and Coban, 2017). گوشت ماهی در مقایسه با گوشت مرغ و گوشت قرمز بسیار فسادپذیرتر بوده و حاوی مقادیر زیادی اسیدهای آمینه آزاد و بازهای نیتروژنی فرار در مقایسه با دیگر گوشت‌ها است (Ashie et al., 1996). در طی دوره نگهداری، از کیفیت گوشت به دلیل فرآیندهای پیچیده فیزیکی، شیمیایی و میکروبی کاسته شده و فساد روی می‌دهد (Sallam, 2007).

نتیجه به یک و یا چندین روش نگهداری نیاز است تا کیفیت و سلامت محصول حفظ شده و زمان نگهداری فرآورده افزایش یابد (Hassoun and Caban, 2017). امروزه استفاده از باکتریوسین‌ها برای افزایش زمان ماندگاری فرآورده‌های غذایی افزایش یافته است. باکتریوسین‌ها پپتیدهای فعال ضدباکتریایی هستند که در ریبوزوم‌های سلول‌های برخی از باکتری‌ها در مقابل گروهی دیگر از باکتری‌ها تولید می‌شوند (Kaewklom et al., 2013). نایسین نوعی از باکتریوسین‌ها است که توسط باکتری *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* تولید می‌شود و به‌صورت موفقیت آمیزی به‌عنوان یک ماده ضدباکتریایی در محصولات مختلف غذایی استفاده می‌شود. نایسین تنها باکتریوسینی است که به‌عنوان نگهدارنده مواد غذایی به‌صورت گسترده استفاده شده و توسط سازمان سلامت جهانی (WHO) به‌عنوان یک نگهدارنده زیستی پذیرفته شده است (Kaewklom et al., 2013). باکتریوسین‌ها زمانی که به‌صورت همزمان با دیگر ترکیبات ضدباکتری از قبیل نگهدارنده‌های طبیعی، ترکیبات فنولی و دیگر پروتئین‌های ضدباکتریایی طبیعی استفاده می‌شوند، اثر سینرژیستی نشان می‌دهند (Sant'Anna et al., 2014).

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل.

2- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل.

3- استادیار، گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل

(* - نویسنده مسئول: Email: alizadeh@uoz.ac.ir)

(Figueiredo and Almeida, 2017). مطالعات نشان داده‌اند ترکیبات ضدباکتریایی از قبیل سدیم استات نقش موثری در جلوگیری از رشد باکتری‌ها و افزایش زمان ماندگاری ماهی در شرایط مختلف نگهداری دارند (Kim et al., 1995). سدیم استات توسط USFAD به عنوان ماده‌ای طعم‌دهنده و کنترل کننده pH تایید شده است. مطالعات گذشته نیز نشان داده است استفاده از سدیم استات نقش موثری در افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی داشته است (Zhuang et al., 1996). در روش های کلاسیک تعیین شرایط بهینه، یک فاکتور در هر آزمایش تغییر داده شده و دیگر فاکتورها ثابت نگه داشته می‌شوند، بنابراین این روش علاوه بر صرف هزینه بالا زمانبر بوده و در بررسی اثر همزمان فاکتورهای مختلف برهم تنایجی حاصل نمی‌شود. لذا با استفاده از روش‌های مبتنی بر طراحی آزمایش می‌توان با آزمایش و زمان کمتر به نتیجه مطلوب رسید. یکی از روش‌های شناخته شده طراحی آزمایش روش تاگوچی است. لذا با کاربرد این روش می‌توان با انجام آزمایش‌های کمتر به تاثیر همزمان فاکتورهای مختلف تعیین شرایط بهینه پرداخت (Moghadam et al., 2014). بنابراین هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر همزمان نایسین، سدیم استات و دما بر رشد/استافیلوکوکوس/اورئوس تلقیح شده در فیله کپور علفخوار با استفاده از طرح آزمایش تاگوچی است.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی

ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) پرورشی با میانگین وزن 1000 ± 5 گرم و طول 35 سانتی‌متر به صورت زنده از مزارع پرورشی شهرستان زابل خریداری و به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل منتقل گردید. ماهی‌ها در حضور مقادیر کافی یخ، پس از گذراندن مراحل شستشو اولیه و تخلیه امعاء و احشاء فیله شدند. سپس فیله‌ها به صورت تصادفی برای تیمار بندی تقسیم شدند.

آماده‌سازی و تلقیح باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس (*Staphylococcus aureus*) به فیله‌ها

باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس (PTCC 1189) از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران-تهران) تهیه شد. باکتری لیوفلیزه به محیط BHI (Brain Heart Infusion broth) تلقیح و به مدت 18 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد فعال گردید. سپس باکتری به محیط کشت BHI انتقال داده شد و پس از 18 ساعت انکوباسیون در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به همراه 20% گلیسرول در دمای 80- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده منجمد شد. برای استفاده، محیط‌های

کشت بر روی محیط کشت تریپتون سویا آگار (TSA) منتقل و گرمخانه‌گذاری شدند. جهت تلقیح باکتری به فیله‌ها ابتدا باکتری از محیط کشت جامد توسط لوپ به محیط کشت BHI منتقل و به مدت 18 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس مقداری از محیط کشت گرمخانه‌گذاری شده به محیط کشت جدید منتقل و مجدد در دمای 37 درجه سانتی‌گراد برای رسیدن به نیمه فاز لگاریتمی رشد انکوباسیون انجام شد. سپس مقداری از محیط کشت سانتریفوژ و پس از دوبار شستشوی باکتری‌ها با سرم نمکی، باکتری‌ها در سرم نمکی ورتکس و از آن جهت تلقیح فیله‌ها با 10^3 CFU/mL استفاده شد (Fernandez-Saiz et al., 2010).

تعیین شرایط بهینه نگهداری فیله کپور علفخوار

به منظور بررسی اثر نایسین، سدیم استات و دما بر رشد باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس در فیله کپور علفخوار از طراحی آزمایش به روش تاگوچی با آرایه 2^3 استفاده و سه فاکتور هر کدام در دو سطح (بالا و پایین) انتخاب گردید. مقادیر مختلف فاکتورهای مورد نظر برای تعیین شرایط بهینه (دما، غلظت نایسین و استات سدیم) و همچنین آرایش ارتوگنال طراحی آزمایش در جداول 1 و 2 نشان داده شده است. جهت حصول اطمینان از سترون بودن فیله ماهی تهیه شده، بررسی وجود یا عدم وجود باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس تست جداسازی استافیلوکوکوس/اورئوس انجام شد. سپس فیله ماهی با 1×10^3 CFU/g باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس به صورت دستی مطابق روش ذکر شده در بخش قبل تلقیح گردید. بر اساس طراحی آزمایش تاگوچی سدیم استات و نایسین با غلظت مشخص به هر دو سطح فیله‌ها اضافه و پس از قراردادن فیله‌ها در کیسه‌های پلاستیکی استریل، فیله‌ها به آرامی با دست ماساژ تا پراکنش سدیم استات و نایسین بر سطح نمونه یکسان شود. سپس فیله‌ها در یخچال (دماهای 4 و 8 درجه سانتی‌گراد) نگهداری و در ساعات مختلف (صفر، 72، 144 و 216) میزان رشد باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس و پارامترهای شیمیایی بررسی گردید. همچنین تغییرات ایجاد شده در ساختار بافتی تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش توسط بافت شناسی کلاسیک مطالعه گردید. به منظور مطالعه میزان تاثیر مواد نگهدارنده بر میزان رشد باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس، از تیمارهای شاهد فاقد مواد نگهدارنده در دماهای 4 و 8 درجه سانتی‌گراد استفاده گردید. تمامی آزمایش‌ها با سه تکرار انجام گرفت.

شمارش باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس

10 گرم گوشت فیله با 90 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط و توسط دستگاه هموژنایزر (IKA T10 basic، Germany) همگن گردید. 0/1 میلی‌لیتر از مخلوط تهیه شده بر روی محیط کشت

استفاده گردید.

جدول 1- فاکتورهای انتخاب شده جهت تعیین شرایط بهینه نگهداری فیله کپور علفخوار

سطح		فاکتور
2	1	
8	4	دما (°C)
750	1000	نایسین (IU/g)
2	1	استات سدیم (%)

جدول 2- تیمارهای مختلف آزمایش شده جهت تعیین شرایط بهینه نگهداری فیله کپور علفخوار

تیمار	استات سدیم (%)	نایسین (IU/g)	دما (°C)
1	1	1	1
2	2	2	1
3	2	1	2
4	1	2	2

نتایج و بحث

رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

ظهور باکتری‌های پاتوژن مقاوم به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های موجود، در کنار تقاضای بازار به مواد غذایی با ماندگاری بالا و فاقد نگهدارنده‌های شیمیایی بسیار مورد توجه صنایع غذایی است. این واقعیات موجب استفاده از موادی از قبیل باکتریوسین‌ها و نمک‌های اسیدهای آلی شده است (Figueiredo and Almeida, 2017). شکل 1، شمارش تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تلقیح شده به فیله کپور علفخوار را در تیمارها و زمان‌های مختلف نشان می‌دهد. بیشترین میزان رشد باکتری در تیمار شاهد به ترتیب در دماهای 8 و 4 درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید. رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در تیمار 4 (استات سدیم 1٪، نایسین 750 IU/g، دما 8 درجه سانتی‌گراد) نسبت به تیمارهای دیگر بیشتر بوده و کمترین میزان رشد در تیمار 2 (استات سدیم 2٪، نایسین 750 IU/g، دما 4 درجه سانتی‌گراد) مشاهده گردید. نکته قابل توجه آن که تیمار 3 (استات سدیم 2٪، نایسین 1000 IU/g، دما 8 درجه سانتی‌گراد) علی‌رغم نگهداری فیله‌ها در دمای 8 درجه سانتی‌گراد، رشد باکتری استافیلوکوکوس با ادامه زمان نگهداری کاهش یافت. که می‌تواند به دلیل کاربرد غلظت‌های بالای استات سدیم و نایسین به‌طور همزمان باشد. همچنین نتایج نشان داد که دما تأثیرگذارترین فاکتور در رشد استافیلوکوکوس اورئوس بوده است و با گذشت زمان دیگر فاکتورها نیز تأثیر خود را نشان دادند (شکل 2). نتایج مطالعه تأثیر اسانس رزماری و نایسین بر رشد باکتری

Baird-Parker agar به‌طور سطحی پخش گردید. در صورت بالا بودن تعداد باکتری در یک پلیت رقیق‌سازی مخلوط (تا رقت نهایی 6) در محلول سرم فیزیولوژی انجام گردید. پلیت‌های کشت داده شده بعد از 48 ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد شمارش شدند (Wu and Su, 2014).

پارامترهای شیمیایی

برای اندازه‌گیری pH، مقدار 5 گرم نمونه با 45 میلی‌لیتر آب مقطر در یک همزن به مدت 1 دقیقه به‌خوبی مخلوط شدند. سپس pH نمونه‌ها با دستگاه pH متر دیجیتالی که در pH 4 و 7 کالیبره شده بود اندازه‌گیری گردید (AOAC, 2005). پراکسید مطابق روش AOAC (2002)، تیوبار بیتوریک اسید مطابق روش Namulema و همکاران (1999) و مجموع بازهای نیتروژنی فرار مطابق روش AOAC (2002) در کل دوره اندازه‌گیری شدند.

مطالعات بافت‌شناسی

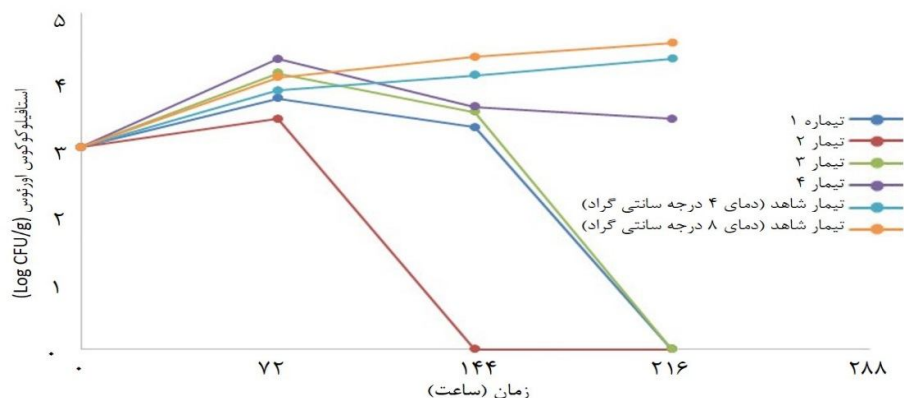
با استفاده از تیغ نمونه‌های 5 میلی‌متری از فیله ماهی تهیه و در محلول کارنوی (60٪ اتانول خالص + 30٪ کلروفرم + 10٪ اسید استیک گلاسیال) به مدت 24 ساعت در 4 درجه سانتی‌گراد تثبیت شدند. آماده‌سازی نمونه‌ها برای ارزیابی ریزساختارهای بافتی، مشاهده فضای بین سلولی و تخریب فیبرها بر اساس روش Alizadeh و همکاران (2007) انجام شد. نمونه تثبیت شده برای آب‌زدایی به مدت 2 ساعت در اتانول خالص قرار داده شدند. در ادامه نمونه‌ها در مخلوطی از 50٪ اتانول خالص و 50 درصد تولوئن به مدت 24 ساعت و سپس به مدت 4 ساعت در تولوئن خالص قرار گرفتند. سپس در حمام پارافین / تولوئن به ترتیب با مقدارهای (25٪ - 50٪ - 75٪) و هر کدام به مدت یک ساعت قرار گرفتند. در انتها، نمونه‌ها به مدت 1 ساعت در حمام پارافین خالص (60 درجه سانتی‌گراد) غوطه‌ور گردیدند. نمونه‌های حاصله با استفاده از پارافین در قالب‌هایی به ابعاد 15×15×20 میلی‌متر قالب‌گیری و با استفاده از میکروتوم (RMT-30, Radical Microtome, India) با ضخامت 10 میکرومتر برش داده شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از متیل اورنژ و بلوآلین رنگ‌آمیزی (Alizadeh et al., 2007) و با استفاده از میکروسکوپ (CX21FS1, Olympus, Japan) مجهز به دوربین (Olympus, SP-500 UZ, Japan) مطالعه و عکس‌برداری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

از نرم‌افزار Statistica 8.0 برای طراحی آزمایش تاگوچی استفاده شد. جهت شناسایی فاکتورهای تأثیرگذار بر میزان فاکتورهای مختلف اندازه‌گیری شده از factorial ANOVA of the design module

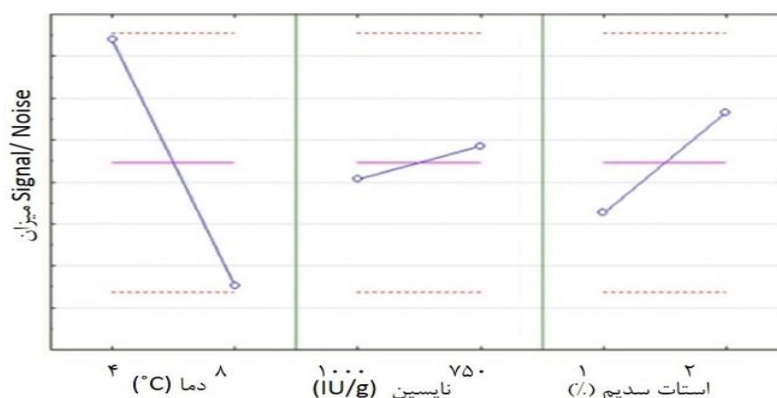
ماهی نشان داد که اثر ممانعتی نایسین بر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با افزایش زمان انکوباسیون افزایش می‌یابد (Vongsawasdi et al., 2012). به‌طوریکه خاصیت کشندگی نایسین بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با افزایش زمان افزایش یافت (Zhao et al., 2016). مطالعه اصغری و همکاران (1388) که نشان دهنده اثرات بازدارندگی نایسین و استات سدیم روی بار باکتریایی فیله کپور نقره ای هنگام نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد می‌باشد نیز با تحقیق حاضر همخوانی دارد.

استریپتوکوکوس اینیایی در دمای 4 و 8 درجه سانتی‌گراد نشان داد که نگهدارنده‌ها توانستند مانع رشد باکتری تا روز 9 و 3 به ترتیب در دمای 4 و 8 درجه سانتی‌گراد شوند (Roomiani et al., 2017). در مطالعه حاضر نیز نگهدارنده‌ها به استثنای تیمار 4 (استات 1٪، نایسین 1 IU/g و 750 و دمای 8 درجه سانتی‌گراد) توانستند جلوی رشد باکتری را گرفته و با افزایش زمان نگهداری اثر ممانعتی نایسین و استات سدیم بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* بهتر نمایان گردید. بررسی اثر نایسین بر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح شده در کوفته



شکل 1- میزان رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح شده به فیله کپور علفخوار در تیمارها و زمان‌های مختلف

تیمار 1- استات سدیم 1٪، نایسین 1000 IU/g، دما 4 درجه سانتی‌گراد؛ تیمار 2- استات سدیم 2٪، نایسین 750 IU/g، دما 4 درجه سانتی‌گراد؛ تیمار 3- استات سدیم 2٪، نایسین 1000 IU/g، دما 8 درجه سانتی‌گراد؛ تیمار 4- استات سدیم 1٪، نایسین 750 IU/g، دما 8 درجه سانتی‌گراد؛ تیمار شاهد (دمای 4 درجه سانتی‌گراد) - فیله ماهی نگهداری شده در دمای 4 درجه سانتی‌گراد؛ تیمار شاهد (دمای 8 درجه سانتی‌گراد) - فیله ماهی نگهداری شده در دمای 8 درجه سانتی‌گراد



شکل 2- تاثیر فاکتورهای مختلف بر میزان رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح شده به فیله کپور علفخوار در پایان دوره آزمایش

استات دیگر فاکتورها (دما و نایسین) تاثیر معنی‌داری ($p < 0/05$) بر میزان TVB-N فیله‌ها داشته‌اند. به‌طوریکه بیشترین تاثیر مربوط به دما و پس از آن نایسین و استات بود (شکل 3). در اثر تجزیه گوشت ماهی به‌وسیله باکتری TVB-N بوجود می‌آید. لذا با افزایش بار میکروبی میزان TVB-N نیز افزایش می‌یابد

مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

نتایج جدول 3 نشان داد که مجموع بازهای نیتروژنی فرار فیله هنگام نگهداری روند افزایشی داشته اما این افزایش در تیمار 2 نسبت به سایر تیمارها کمتر بود. که به علت نگهداری در دمای پایین و کاربرد غلظت بالای استات سدیم است. در پایان آزمایش به‌جز

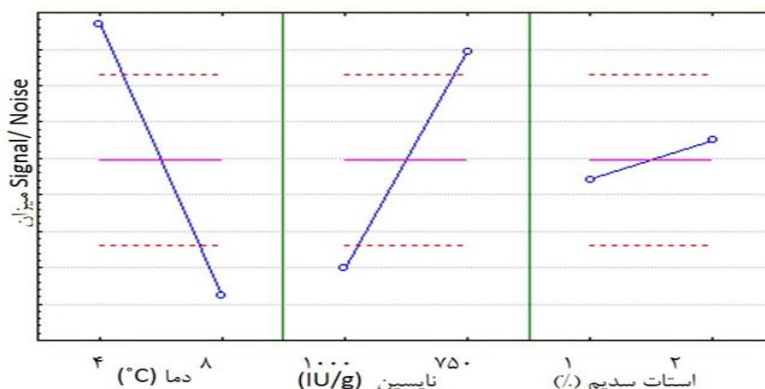
حاضر بیشترین میزان TVB-N (30/33 میلی گرم نیترژن در 100 گرم گوشت ماهی) در تیمار 4 پس از 216 ساعت نگهداری در دمای 8 درجه سانتی گراد مشاهده گردید که بالاتر از حد قابل قبول (25 میلی گرم نیترژن در 100 گرم گوشت ماهی) بوده است (Giménez *et al.*, 2002).

(Özyurt *et al.*, 2009). بدین صورت که بازهای فرار با جدا شدن آمین ها از اسیدهای آمینه توسط آنزیم های میکروبی تولید می شوند (Muratore and Licciredello, 2005). علاوه بر این، افزایش این شاخص طی نگهداری احتمالا می تواند در نتیجه دامیناسیون اسیدهای آمینه باشد (Pacheco-Aguilar *et al.*, 2000). در مطالعه

جدول 3- تغییرات مقادیر TVB-N (میلی گرم نیترژن در 100 گرم گوشت ماهی) در تیمار ها و زمان های مختلف

تیمار	زمان (ساعت)			
	216	144	72	0
1	21/00 ± 2/42	12/13 ± 0/81	9/33 ± 0/57	7/33 ± 0/31
2	14/00 ± 1/54	10/27 ± 0/95	7/47 ± 0/72	7/47 ± 0/23
3	22/87 ± 1/62	14/00 ± 1/30	11/67 ± 0/71	7/33 ± 0/25
4	30/33 ± 2/91	16/33 ± 0/45	13/53 ± 1/27	7/07 ± 0/40

تیمار 1- استات سدیم 1%، نایسین 1000 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد؛ تیمار 2- استات سدیم 2%، نایسین 750 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد؛ تیمار 3- استات سدیم 2%، نایسین 1000 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد؛ تیمار 4- استات سدیم 1%، نایسین 750 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد



شکل 3- تاثیر فاکتورهای مختلف بر میزان TVB-N فیله کپور علفخوار در پایان دوره آزمایش

Onchirhynchus nerka) هنگام نگهداری در دمای 1 درجه سانتی گراد نشان داد که استفاده از استات سدیم به طور معنی داری موجب کاهش روند افزایشی میزان PV می گردد (Sallam, 2007). نتایج آزمون آماری نشان داد که در پایان آزمایش تمامی فاکتورها تاثیر معنی داری ($p < 0/05$) بر تغییر میزان PV فیله ها داشته اند. به طوریکه دما بیشترین تاثیر را بر میزان PV و پس از آن نایسین و استات سدیم نشان دادند (شکل 4). میزان پراکسید در تیمار 1 و 2 نگهداری شده در دمای 4 درجه سانتی گراد نسبت به تیمار 3 و 4 نگهداری شده در دمای 8 درجه سانتی گراد نگهداری کمتر بود، که نشان دهنده نقش موثر دما در جلوگیری از اکسیداسیون چربی ها می باشد. لذا نگهداری فیله ها در دمای کم و استفاده از غلظت بالاتر استات سدیم نقش مهمی در کنترل افزایش میزان PV در فیله ها ایفا می کنند. نایسین دارای اثرات سینرژیستی خوبی در کاهش

مقادیر پراکسید (PV)

پراکسید شاخص ارزشمندی جهت ارزیابی میزان اکسیداسیون لیپیدها در طول دوره نگهداری مواد غذایی است (Barbosa-Pereira *et al.*, 2013). مقدار PV در شروع آزمایش در تمامی تیمارها پایین بود و با افزایش زمان نگهداری مقدار آن در فیله ها به تدریج افزایش یافت (جدول 4). به طوریکه بیشترین میزان PV در تیمار 4 (استات سدیم 1%، نایسین 750 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد) و کمترین آن در تیمار 2 (استات سدیم 2%، نایسین 750 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد) مشاهده گردید. ولی مقدار پراکسید در همه تیمارها از حد قابل قبول پیشنهادی (5 میلی کی والان O_2 در کیلو گرم چربی ماهی) کمتر بود (Sikorski, *et al.*, 1990). همانطور که نتایج نشان داد میزان افزایش PV با افزایش درصد استات سدیم کاهش یافت. تاثیر آنتی اکسیدانی استات سدیم روی ورقه های ماهی آزاد

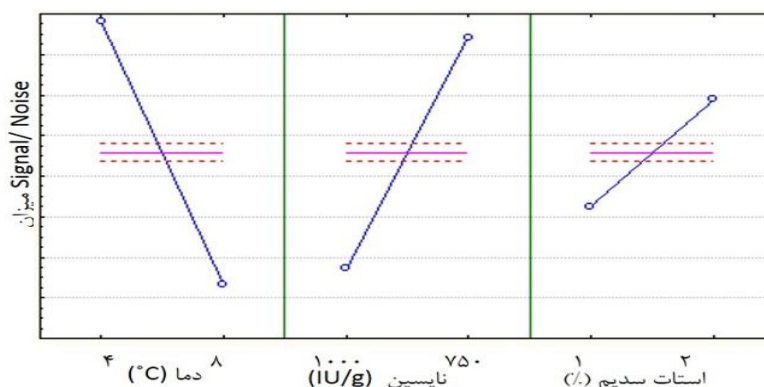
کنترل کند. در حالی که استفاده ترکیبی نایسین با عصاره رزماری موجب افزایش کمتر میزان PV فیلدها می گردد.

اکسیداسیون لیپیدها هنگام استفاده همزمان با استات سدیم دارد (اصغری و همکاران، 1388). نتایج Gao و همکاران (2014) نشان داد که استفاده از نایسین به تنهایی نمی تواند میزان PV فیلدها ماهی *Trachinotus ovatus* نگهداری شده در دمای 4 درجه سانتی گراد را

جدول 4- تغییرات مقادیر PV (میلی اکی والان O₂ در کیلوگرم چربی ماهی) در تیمارها و زمان های مختلف

تیمار	0	72	144	216
1	0/56 ± 0/03	0/85 ± 0/02	1/17 ± 0/06	2/93 ± 0/05
2	0/53 ± 0/02	0/56 ± 0/02	0/63 ± 0/04	1/12 ± 0/03
3	0/55 ± 0/03	1/74 ± 0/03	2/25 ± 0/28	3/21 ± 0/02
4	0/54 ± 0/05	1/98 ± 0/05	2/46 ± 0/53	4/57 ± 0/06

تیمار 1- استات سدیم 1%، نایسین 1000 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد؛ تیمار 2- استات سدیم 2%، نایسین 750 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد؛ تیمار 3- استات سدیم 2%، نایسین 1000 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد؛ تیمار 4- استات سدیم 1%، نایسین 750 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد



شکل 4- تاثیر فاکتورهای مختلف بر میزان PV فیلدها کپور علفخوار در پایان دوره آزمایش

به علت تاثیر آنتی باکتریایی استات سدیم روی باکتری هایی که در واکنش آنزیمی اکسیداسیون نقش دارند باشد (Etemadi et al., 2013). Kashiri و همکاران (2011) نشان دادند که فیلدهای تاس ماهی ایرانی تیمار شده با استات سدیم منجر به تاخیر در اکسیداسیون چربی ها و افزایش زمان نگهداری در دمای 4 درجه سانتی گراد گردیدند. بیشترین حد پیشنهادی میزان تیوباریتوریک اسید 2 میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم چربی ماهی می باشد (Lakshmanan, 2000). که در تحقیق ما تیمارهای 3 و 4 پس از 216 ساعت نگهداری از حد گذشتند ولی تیمارهای 1 و 2 به این میزان نرسیدند. شکل 5 نشان می دهد که تمامی فاکتورها تاثیر معنی داری ($p < 0/05$) بر میزان TBA فیلدها داشته به طوریکه بیشترین تاثیر بر میزان TBA مربوط به دما و پس از آن نایسین و استات سدیم می باشد.

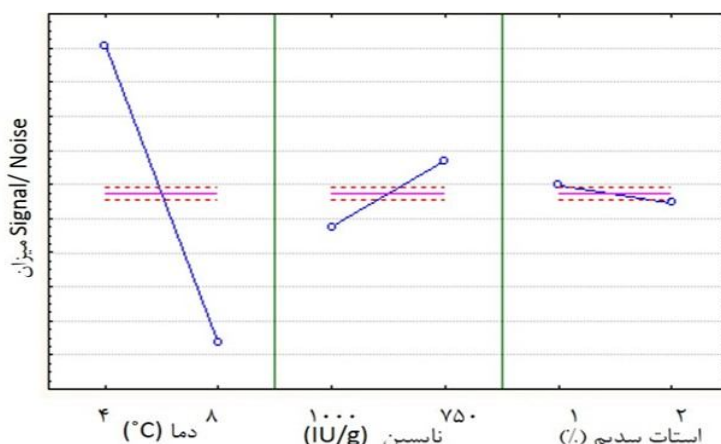
مقادیر تیوباریتوریک اسید (TBA)

به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی در ماهیان از شاخص TBA نیز استفاده می شود که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به ویژه آلدهیدها (مالون آلدهید) را نشان می دهد (Nishimoto et al., 1985). مقادیر TBA طی زمان نگهداری در تمامی تیمارها افزایش یافت که می تواند به علت تشکیل محصولات ثانویه هیدرولیز چربی ها باشد (Schillinger et al., 1996). بیشترین و کمترین میزان به ترتیب در تیمار 4 و 2 مشاهده گردید (جدول 5). تاثیر نمک های سدیمی روی اکسیداسیون چربی استیک قزل آلا رنگین نگهداری شده در دمای 4 درجه سانتی گراد نشان داد که کاربرد استات سدیم موجب افزایش کمتر TBA استیک ها در مقایسه با سایر نمک های سدیمی گردید (Haghparsat et al., 2010). همچنین کمتر بودن میزان TBA در تیمارهای حاوی درصد بالاتر استات سدیم می تواند

جدول 5- تغییرات میزان TBA (میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم گوشت ماهی) در تیمارها و زمان‌های مختلف

زمان (ساعت)				تیمار
216	144	72	0	
0/96 ± 0/017	0/75 ± 0/040	0/52 ± 0/010	0/31 ± 0/012	1
0/81 ± 0/015	0/64 ± 0/025	0/45 ± 0/025	0/27 ± 0/006	2
2/09 ± 0/026	0/84 ± 0/035	0/57 ± 0/021	0/29 ± 0/015	3
2/77 ± 0/036	1/07 ± 0/035	0/82 ± 0/012	0/30 ± 0/021	4

تیمار 1- استات سدیم 1%، نایسین 1000 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد؛ تیمار 2- استات سدیم 2%، نایسین 750 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد؛ تیمار 3- استات سدیم 2%، نایسین 1000 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد؛ تیمار 4- استات سدیم 1%، نایسین 750 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد



شکل 5- تاثیر فاکتورهای مختلف بر میزان TBA فیله کپور علفخوار در پایان دوره آزمایش

ترکیبات آمونیوم و مولکول‌های قلیایی با گذشت زمان باشد که زمینه مناسبی را برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌های اتولیتیک فراهم می‌کند و همچنین سبب فعالیت آنزیمی نیز می‌گردد و سبب افزایش pH می‌شود (Arashisar et al., 2004). در پایان آزمایش به‌جز نایسین دیگر فاکتورها (دما و استات سدیم) تاثیر معنی‌داری ($p < 0/05$) بر میزان pH فیله‌ها نداشته‌اند. به‌طوریکه بیشترین تاثیر را دما و پس از آن استات سدیم و نایسین داشته‌اند (شکل 6).

مقادیر pH

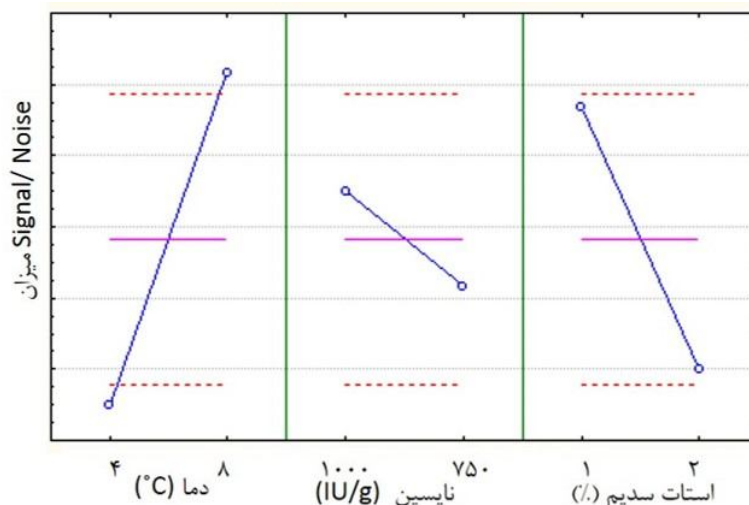
pH تیمارها طی نگهداری به تدریج کاهش یافت (جدول 6) که این روند به‌خوبی از 24 تا 144 ساعت نگهداری قابل مشاهده می‌باشد. کاهش اولیه pH می‌تواند به‌علت گلیکولیز بی‌هوازی پس از مرگ با تجمع اسید لاکتیک بین سلول‌های عضلانی باشد (Gatica et al., 2008).

اما پس از 144 ساعت میزان pH در تمامی تیمارها به‌جز تیمار 2 روند افزایش یافت، که علت آن نیز می‌تواند به‌دلیل افزایش غلظت

جدول 6- تغییرات مقادیر pH در تیمارها و زمان‌های مختلف

زمان (ساعت)				تیمار
216	144	72	24	
6/42 ± 0/02	6/38 ± 0/03	6/44 ± 0/02	6/65 ± 0/03	1
6/37 ± 0/01	6/44 ± 0/03	6/56 ± 0/02	6/74 ± 0/04	2
6/45 ± 0/02	6/42 ± 0/01	6/63 ± 0/04	6/84 ± 0/03	3
6/43 ± 0/05	6/40 ± 0/05	6/60 ± 0/03	6/90 ± 0/02	4

تیمار 1- استات سدیم 1%، نایسین 1000 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد؛ تیمار 2- استات سدیم 2%، نایسین 750 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد؛ تیمار 3- استات سدیم 2%، نایسین 1000 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد؛ تیمار 4- استات سدیم 1%، نایسین 750 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد

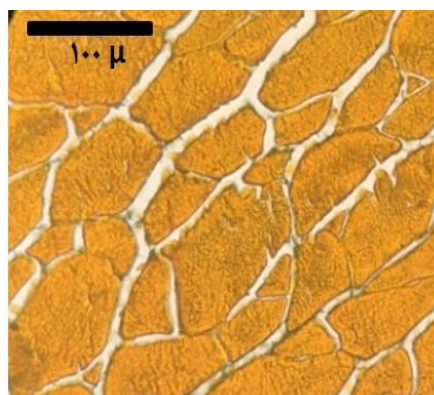


شکل 6- تاثیر فاکتورهای مختلف بر میزان pH فیله کپور علفخوار در پایان دوره آزمایش

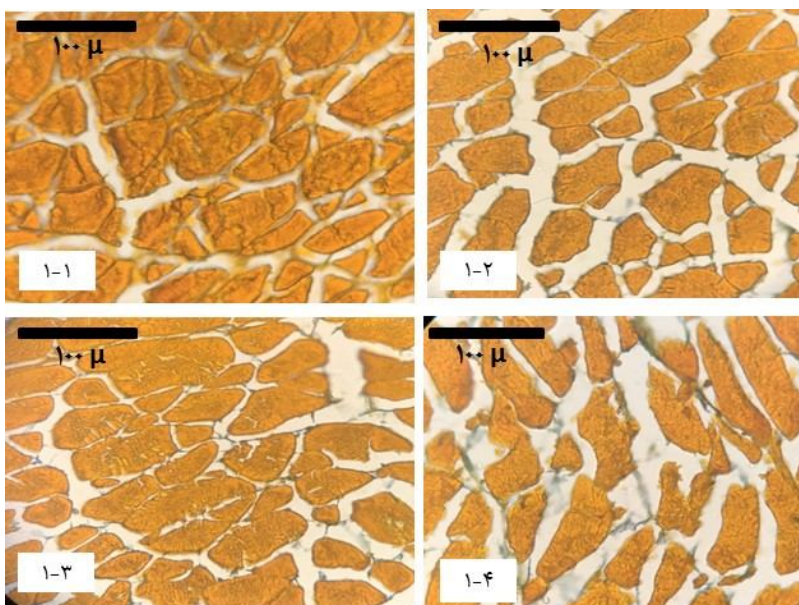
مطالعه Sharifian و همکاران (2014) بر روی ریزساختار فیله ماهی هامور معمولی طی نگهداری در یخچال (4 درجه سانتی‌گراد) نشان داد که در نمونه شاهد آرایش فیبرها منظم و فاصله بین آن‌ها بسیار کم بود. اما با گذشت زمان نگهداری، چروکیدگی سطح فیبرها و فاصله بین آن‌ها افزایش یافت. که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. همچنین میکروارگانیزم‌ها نیز سبب تغییرات ساختار میوفیبریل‌های سلول می‌گردند (Chéret et al., 2005). لذا با توجه به ادامه رشد باکتری استافیلوکوکوس/ورئوس در تیمار 4 این تغییرات نسبت به سایر تیمارها به‌خوبی قابل مشاهده است.

مطالعات بافت‌شناسی

شکل 7 ریزساختار عضله کپور علفخوار را هنگام شروع آزمایش نشان می‌دهد. فیبرهای ماهیچه‌ای نسبتاً یکدست و با فرم‌های منظم می‌باشند. فضای بین سلولی کم شکستگی در فیبرها مشاهده نمی‌گردد. اما پس از پایان آزمایش فضای بین سلولی و شکستگی فیبرها افزایش یافت (شکل 8). به‌طوریکه این تغییرات در تیمارهای نگهداری شده در دمای 8 درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای 4 درجه سانتی‌گراد بیشتر بود. همچنین به علت تاثیر مواد نگهدارنده در دو دما، تغییرات ایجاد شده نسبت به گروه شاهد کمتر بوده است. نتایج



شکل 7- تصویر بافت‌شناسی عضله کپور علفخوار در شروع آزمایش



شکل 8- تصاویر بافت شناسی عضله کپور علفخوار در پایان دوره آزمایش

شکل 1-1- تیمار 1- استات سدیم 1%، نایسین 1000 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد؛ شکل 1-2- تیمار 2- استات سدیم 2%، نایسین 750 IU/g، دما 4 درجه سانتی گراد؛ شکل 1-3- تیمار 3- استات سدیم 2%، نایسین 1000 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد؛ شکل 1-4- تیمار 4- استات سدیم 1%، نایسین 750 IU/g، دما 8 درجه سانتی گراد

دمای 4 درجه سانتی گراد، نایسین با غلظت 1000 IU/g و استات سدیم با غلظت 2٪ به عنوان شرایط بهینه نگهداری فیله‌ها تعیین گردید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه زابل (Grant code:UOZ-9517-26) و همکاری کارشناسان محترم گروه شیلات و محیط زیست برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می گردد.

نتیجه گیری

به طور کلی براساس شمارش تعداد باکتری /استافیلوکوکوس /اورئوس، استفاده از ترکیب نگهدارنده‌های نایسین و استات سدیم در هر دو دمای 4 و 8 درجه سانتی گراد می‌تواند کیفیت محصول را حفظ کند. اگرچه بر اساس شاخص TVB-N نگهداری در دمای بالا (8 درجه سانتی گراد) به شرط استفاده از غلظت بالاتر نایسین (1000 IU/g) و استات (2٪) امکان پذیر می‌باشد. در حالیکه بر اساس شاخص TBA نگهداری فیله‌ها در دمای 8 درجه سانتی گراد امکانپذیر نیست. همچنین بر اساس مدل سازی انجام شده با استفاده از آنالیز تاگوچی

منابع

- اصغری، م.، علیزاده دوغی کلایی، ا.، صفری، ر.، ارشدی، ع.، سعیدی اصل، م. ر.، 1388، بررسی تاثیر نایسین Z و استات سدیم بر زمان ماندگاری فیله‌ی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) در طی نگهداری در دمای 4 درجه ی سانتی گراد. فصلنامه‌ی علوم و فناوری غذایی، 1(3)، 55-64.
- Alizadeh, E., Chapleau, N., de Lamballerie, M. & Le-Bail, A., 2007, Effect of different freezing processes on the microstructure of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8(4), 493-499.
- AOAC., 2002, Official Methods of Analysis of the Association of the Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, (14th ed.), Washington, DC.
- AOAC., 2005, Official Methods of Analysis of the Association of the Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, (17th Ed), Washington, DC.
- Arashisar, Ş., Hisar, O., Kaya, 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(2), 209-214.

- Ashie, I. N. A., Smith, J. P., Simpson, B. K. & Norman, F. H., 1996, Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36(1-2), 87-121.
- Barbosa-Pereira, L., Cruz, J. M., Sendón, R., Bernaldo de Quirós, A. R., Ares, A., Castro-López, M., José Abad, M., Maroto, J. & Paseiro-Losada, P., 2013, Development of antioxidant active films containing tocopherols to extend the shelf life of fish. *Food Control*, 31(1), 236-243.
- Chéret, R., Chapleau, N., Delbarre-Ladra, Ch., Verrez-Bagnis, V. & de Lamballerie, M., 2005, Effects of high pressure on texture and microstructure of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Journal of Food Science*, 70(8), e477-e483.
- Etemadi, H., Rezaei, M., Abedian Kenari, A. M. & Hosseini, S. F., 2013, Combined effect of vacuum packaging and sodium acetate dip treatment on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigerated storage. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15(5), 929-939.
- Fernandez-Saiz, P., Soler, C., Lagaron, J. M. & Ocio, M. J., 2010, Effects of chitosan films on the growth of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in laboratory media and in fish soup. *International Journal of Food Microbiology*, 137, 287-294.
- Figueiredo, A. C. L. & Almeida, R. C. C., 2017, Antibacterial efficacy of nisin, bacteriophage P100 and sodium lactate against *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat sliced pork ham. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(4), 724-729.
- Gao, M., Feng, L., Jiang, T., Zhu, J., Fu, L., Yuan, D. & Li, J., 2014, The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (*Trachinotus ovatus*) fillet during chilled storage. *Food Control*, 37, 1-8.
- Gatica, M. C., Monti, G., Gallo, C., Knowles, T. G. & Warriss, P. D., 2008, Effects of well-boat transportation on the muscle pH and onset of rigor mortis in Atlantic salmon. *The Veterinary Record*, 163(4), 111-116.
- Giménez, B., Roncalés, P. & Beltrán, J. A., 2002, Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(10), 1154-1159.
- Haghparsat, S., Kashiri, H., Shabanpour, B. & Pahlavani, M. H., 2010, Antioxidant properties of sodium acetate, sodium citrate and sodium lactate on lipid oxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sticks during refrigerated storage (4°C). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 9(1), 73-86.
- Hassoun, A. & Çoban, Ö. E., 2017, Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood products. *Trends in Food Science and Technology*, 68, 26-36.
- Kaewklom, S., Lumlert, S., Kraikul, W. & Aunpad, R., 2013, Control of *Listeria monocytogenes* on sliced bologna sausage using a novel bacteriocin, amysin, produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from Thai shrimp paste (Kapi). *Food Control*, 32(2), 552-557.
- Kashiri, H., Haghparsat, S. & Shabanpour, B., 2011, Effects of sodium salt solutions (sodium acetate, lactate and citrate) on physicochemical and sensory characteristics of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fillets under refrigerated storage. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13(1), 89-98.
- Kim, C. R., Hearnberger, J. O., Vickery, A. P., White, C. H. & Marshall, D. L., 1995, Extending shelf life of refrigerated catfish fillets using sodium acetate and monopotassium phosphate. *Journal of Food Preservation*, 58(6), 644-647.
- Lakshmanan, P. T., 2000, Fish spoilage and quality assessment. In T. S. G. Iyer, M. K. Kandoran, Mary Thomas, and P. T. Mathew (Eds.), *Quality assurance in seafood processing*. Cochin: Society Fisheries Technology, India, 26-40.
- Moghadam, M. S., Ebrahimipour, G., Abtahi, B., Ghassempour, A. & Hashtroudi, M. S., 2014, Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterial consortium enriched from mangrove sediments. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 12(1), 114.
- Muratore, G. & Licciredello, F., 2005, Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the shelf life of liquid-smoked swordfish (*Xiphias gladius*) slices. *Journal of Food Science*, 70(5), C359-C363.
- Namulema, A., Muyonga, J. H. & Kaaya, A. N., 1999, Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27°C. *Food Research International*, 32(2), 151-156.
- Nishimoto, J., Suwetja, I. K. & Miki, H., 1985, Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. *Memoirs of the Faculty of fisheries Kagoshima University*, 34(1), 89-96.
- Özyurt, G., Kuley, E., Özkütük, S. & Özogul, F., 2009, Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chemistry*, 114, 505-510.
- Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M. E. & Robles-Burgueño, M. R., 2000, Postmortem Biochemical and Functional Characteristic of Monterey Sardine Muscle Stored at 0 °C. *Journal of Food Science*, 65(1), 40- 47.
- Roomiani, L., Soltani, M., Basti, A. A. & Mahmoodi, A., 2017, Effect of *Rosmarinus officinalis* Essential Oil and Nisin on *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae* in a Food Model System. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(10), 1189-1198.
- Sallam, K. I., 2007, Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*, 18(5), 566-575.
- Sant'Anna, V., Quadros, D. A. F., Motta, A. S. & Brandelli, A., 2014, Antibacterial activity of bacteriocin-like substance P34 on *Listeria monocytogenes* in chicken sausage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(4), 1163-1167.

- Schillinger, U., Geisen, R. & Holzapfel, W. H., 1996, Potential antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 7(5), 158-164.
- Sharifian, S., Alizadeh, E., Mortazavi, M. S. & Moghadam, M. S., 2014, Effects of refrigerated storage on the microstructure and quality of Grouper (*Epinephelus coioides*) fillets. *Journal of Food Science and Technology*, 51(5), 929-935.
- Sikorski, Z. E., Kolakowska, A. & Pan, B. S., 1990, The nutritive composition of the major groups of marine food organisms. In: *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*, Sikorski, Z. E. (Ed.) CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 29-54.
- Vongsawasdi, P., Nopharatana, M., Supanivatin, P. & Promchana, M., 2012, Effect of nisin on the Survival of *Staphylococcus aureus* inoculated in fish balls. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 5(01), 52-60.
- Wu, X. & Su, Y., 2014, Growth of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin production in pre-cooked tuna meat. *Food Control*, 42, 63-70.
- Zhuang, R. Y., Huang, Y. W. & Beuchat, L. R., 1996, Quality changes during refrigerated storage of packaged shrimp and catfish fillets treated with sodium acetate, sodium lactate or propyl gallate. *Journal of Food Science*, 61(1), 241-244.
- Zhao, X., Shi, C., Meng, R., Liu, Z., Huang, Y., Zhao, Z. & Guo, N., 2016, Effect of nisin and perilla oil combination against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in milk. *Journal of Food Science and Technology*, 53(6), 2644-2653.



Evaluation of the effect of nisin, sodium acetate and temperature on the quality of *Ctenopharyngodon idella* fillet inoculated with *Staphylococcus aureus*

N. Cheraghi¹, E. Alizadeh doughikollae^{*2}, M. Shahriari Moghadam³

Received: 2017.12.01

Accepted: 2018.07.07

Introduction: Recently, the high nutritional value of fish and other seafood has caused continuously increasing their consumption in human diet. The meat quality can be decreased during storage due to physical, chemical and microbial changes. Thus, the different methods of preservation should be used to improve the quality and increase the shelf-life of the product. The application of bacteriocinins has been increased to extend the shelflife of food products. Nisin is a kind of bacteriocinins that is produced by *Lactococcus lactis* bacteria and used as food preservatives. It is accepted such as food additive in many food commodities. Bacteriocinins showed synergistic effects when they used with other antibacterial compounds such as natural preservatives and phenolic compounds. Literature review showed that the antibacterial compounds such as sodium acetate play an important role in preventing the growth of bacteria and increasing the shelf life of fish during different storage conditions. Conventional optimization procedures are performed by altering one parameter at a time and keeping all other parameters at fixed levels. However, these procedures are time consuming and require more experimental data sets. Recently, the use of an orthogonal array approach called 'Taguchi method' has been successfully examined in the different field of sciences. Therefore the aim of this research was to investigate the effects of nisin, sodium acetate and temperature on the growth of *Staphylococcus aureus* in *Ctenopharyngodon idella* fillet using Taguchi experimental design with an array L₄(2³).

Materials and methods: The fresh *Ctenopharyngodon idella* with weight of 1 kg were purchased from market (Zabol, South east of Iran) and transported in isothermal iceboxes to the fish product processing laboratory at University of Zabol in 2016. The fishes were cleaned and filleted. Fillets after inoculated with *Staphylococcus aureus* (10³ Log CFU/g) and added nisin (750 and 1000 IU/g) and sodium acetate (1 and 2 %) were stored in different temperatures (4 and 8 °C). Chemical parameters (pH, PV, TBA and TVB-N) and *Staphylococcus aureus* count were measured at 0, 3, 6 and 9 days. Microscopic analysis was used to observe the microstructure changes at end of storage. The experiments were performed in three replicates.

Results & discussion: The present study showed that the lowest and highest *Staphylococcus aureus* growth was observed in treatment 2 (sodium acetate 2%, nisin 750 IU/g, temperature 4°C) and control at 4 and 8° C, respectively. It is noticeable that the growth of *Staphylococcus aureus* decreased in treatment 3 (sodium acetate 2%, nisin 1000 IU/g, temperature 8° C) during storage at 8° C. Also, the results showed that the temperature was most important factor on the growth of *Staphylococcus aureus* in the beginning of experiment and the other factors showed their effect during storage. Therefore, the highest and lowest effect was related to temperature and nisin at the end of experiment, respectively. In the present study, the additives could be prevented the growth of bacteria with except in treatment 4 (sodium acetate 1%, nisin 750 IU/g, temperature 8° C). The inhibitory effects of nisin and sodium acetate on the growth of *Staphylococcus aureus* was better shown with increasing storage time. The TVB-N of fillets increased during storage but this increase was lower in treatment 2 than the other treatments. The temperature and nisin had a significant effect (p <0.05) on the TVB-N of fillets at the end of experiment. The PV value was lower in all treatments at the beginning of experiment and gradually increased in fillets with increasing storage time. The highest and lowest of PV value was observed in treatment 4 (sodium acetate 1%, nisin 750 IU/g, temperature 8° C) and treatment 2 (sodium acetate 2%, nisin 750 IU/g, temperature 4°C) respectively. The PV value of all treatments was lower than the acceptable level (5 meq O₂/kg lipid) of fresh fillets at the end of storage. The temperature had more effect on the PV value between the

1. MSc. in Fish product processing, Faculty of Natural Resources, University of Zabol

2. Associate Prof, Faculty of Natural Resources, University of Zabol. Email:

3. Assistant Prof, Faculty of Natural Resources, University of Zabol

(*Corresponding Author Email: alizadeh@uoz.ac.ir)

other factors. So that the PV value increase with increasing of temperature. The TBA value increased in all treatments during storage but this increase was higher in treatments 3 and 4 than the treatments 1 and 2. Thus, these treatments were more than the acceptable level at the end of storage. The pH of treatments gradually decreased during storage. This process has been visible from 24 to 144 hours of storage. After this time the pH increases in all treatments except treatment 2. The microstructure of *Ctenopharyngodon idella* showed that the muscle fibers of control were relatively uniform and regular shapes of the cross-section. But the increase extra-cellular space and fibre shrinking were observed in treated samples at the end of storage in comparison to control. These changes were higher in the samples stored at 8° C than 4° C. The results of this research showed that the treatment contain nisin (750 IU/g), sodium acetate (2%) and temperature (4°C) was more efficacy during storage of *Ctenopharyngodon idella* fillet whereas Taguchi experimental design was propose nisin (1000 IU/g), sodium acetate (2%) and temperature (4°C) for best condition of storage.

Keywords: Nisin, Sodium acetate, Microstructure, *Staphylococcus aureus*, Taguchi experimental



اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی ماندگاری و خواص حسی دونات سرخ شده

مهین حیدری اشکذری¹ - مانیا صالحی فر²*

تاریخ دریافت: 1396/09/26

تاریخ پذیرش: 1397/04/03

چکیده

یکی از راه‌های افزایش ماندگاری محصولات سرخ شده افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد، با توجه به سمیت آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، لازم است که این آنتی‌اکسیدان‌ها را با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در محصولات نظیر دونات جایگزین نمود. که یکی از مشکلات آن فساد اکسیداتیو در انواع دونات‌های صنعتی است. هدف از این پژوهش، استخراج عصاره گل انار و استفاده از ویتامین B₃ به‌عنوان دو آنتی‌اکسیدان طبیعی در دونات استفاده شد. در این پژوهش اثر سه متغیر عصاره گل انار (0/04، 0/55، 0/07 درصد) و ویتامین B₃ (1/5، 1/9، 2/3 درصد) بر خصوصیات اکسیداسیون (اندیس پراکسید، اسیدیته، آنیزیدین، توتوکس و تیوباریتوریک اسید)، سختی بافت و ارزیابی حسی (طعم، بافت، رنگ و پذیرش کلی) مورد ارزیابی و آنالیز قرار گرفتند. مقایسه میانگین مورد بررسی، با استفاده از روش RSM و طرح مرکب مرکزی (CCD) انجام شد. نتایج نشان داد که افزودن عصاره گل انار و ویتامین B₃ به دونات سبب کاهش معنی‌دار اندیس پراکسید، آنیزیدین، توتوکس، اسیدیته و تیوباریتوریک اسید در روز پانزدهم مشاهده شد. در حالی که سختی بافت با افزایش ویتامین B₃ در روز پانزدهم افزایش نشان داد. همچنین ارزیابی حسی انجام شده بیانگر آن بود که با افزایش درصد عصاره گل انار و ویتامین B₃، میزان رضایت‌مندی در تمامی ویژگی‌های حسی کاهش یافت. نتایج بهینه‌سازی نشان داد که نمونه دونات حاوی 0/07 درصد عصاره گل انار و ویتامین B₃ 1/97 درصد و به‌عنوان بهترین تیمار از نظر خواص حسی و ماندگاری پذیرفته شد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان طبیعی، گل انار، ویتامین B₃، اکسیداسیون چربی، دونات، روش سطح پاسخ.

مقدمه

(al., 2012). عملکرد دارویی آن به علت وجود ترکیبات فنلی، فلاونوئید و آنتوسیانین موجود در گل‌های انار به‌عنوان کاهش‌دهنده فشار خون، کاهش ریسک ابتلا به دیابت، کاهش کلسترول و نقش مهمی در حفاظت از کبد و قند خون می‌باشد (Huang et al., 2005). همچنین ترکیبات پلی‌فنلی مسئول فعالیت‌های ضد میکروبی هستند که برای بیماری‌های عفونت انگلی، اسهال و آسیب‌های تنفسی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Al- Muammar et al., 2012). البته لازم به ذکر است که مقدار ترکیبات فنولی و همچنین از نظر آنتی‌اکسیدانی بیشترین مقدار در گیاه گل انار مشاهده شده است (مرتضایی و همکاران، 1392).

ویتامین B₃ یا نیاسین⁹ که واژه‌ای عمومی است که به دو شکل ویتامین یعنی نیکوتین آمید و نیکوتینیک اسید اطلاق می‌شود. فرمول گسترده آن C₆H₅O₂N با وزن مولکولی 123/11، در حرارت 234-237 درجه سانتی‌گراد ذوب می‌شود. بلورهای سفید، مزه‌اش ترش و بی‌بو است و خاصیت آب‌دوستی دارد و نسبت به نور، حرارت، قلیایی، اسید پایدار است به علت پایداری آن فقط مقدار کمی ضمن تهیه غذا از بین می‌رود. همچنین در زنجیره انتقال الکترون نقش دارد

گل انار با نام علمی (*Punica granatum flower*) به‌طور وسیعی در خاورمیانه، حاشیه دریای مدیترانه، مالزی، هند، آفریقا و آمریکای جنوبی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Al- Muammar et al., 2012). با وجود اهمیت بسیار گل انار مطالعات کمی بر روی آن در سطح دنیا انجام گرفته است که می‌توان به پژوهشی در مورد ترکیبات گل انار اشاره نمود که شامل: اسید گالیک³، الازیک اسید⁴، اسید اورسولیک⁵ و تری ترپنوئیدهایی نظیر اولتانولیک⁶، اسید ماسلینیک⁷ و اسید آسیاتیک⁸ یافت می‌شوند (Al- Muammar et al., 2012).

1 و 2- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

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

DOI: 10.22067/iftstrj.v14i5.69495

³ Gallic Acid

⁴ Ellagic Acid

⁵ Ursolic Acid

⁶ Oleanolic

⁷ Maslinic acid

⁸ Asiatic Acid

⁹ Niacine

مواد و روش‌ها

گل انار با نام علمی *Punica granatum flower* از استان یزد تهیه و پس از تأیید آن توسط گیاهشناس متخصص در مرکز تحقیقات منابع طبیعی استان یزد مورد استفاده قرار گرفت. ویتامین B₃ از شرکت مرک آلمان تهیه شد. جهت تولید دونات آرد گندم (شرکت تک ماکارون، تهران، ایران)، تخم‌مرغ، مخمر (گل مایه)، شکر، وانیل، بهبوددهنده (سهیل پودر، تهران، ایران)، نمک (صدف، تهران، ایران)، روغن (بهار، تهران، ایران)، شیر (کم‌چرب میهن، تهران، ایران) بود. درصدها براساس نسبت وزنی - وزنی آرد می باشد. این آرد حاوی 11/8 درصد پروتئین، 14/2 درصد رطوبت، 1/35 درصد خاکستر، 2/19 درصد اسیدیته و pH 6/2 درصد بود (AACC, 1999).

استخراج عصاره از گل انار

گل‌ها پس از جمع‌آوری ابتدا تمیز و سپس با آسیاب خانگی (Black and daker) به‌صورت پودری در آمد. پودر به‌دست آمده بسته به اندازه ذرات مورد نظر توسط الک‌هایی با مش معین غربال و در نهایت در کیسه‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی و تا زمان انجام مرحله عصاره‌گیری در مکانی خشک و در دمای اتاق نگهداری شد. برای عصاره‌گیری حدود 85 گرم پودر خشک شده گل انار و پس از قرار دادن در 200 سی‌سی اتانول 96 درصد مخلوط شد و نمونه به مدت 24 ساعت روی شیکر 70 rpm قرار گرفت و بعد در داخل شیشه تیره ریخته و پس از طی 24 ساعت صاف گردید (توسط کاغذ صافی) سپس توسط دستگاه روتاری (Buchi)، حلال اضافی آن در دمای 45 درجه سانتی‌گراد استخراج شد تا زمان انجام آزمایش در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (مرتضایی و همکاران، 1392).

روش تهیه دونات

در ابتدا مواد پودری شامل (آرد، نمک، شکر، مخمر، وانیل، ویتامین B₃، بهبوددهنده) توسط ترازو به مقدار لازم توزین و به‌وسیله میکسر (Kenwood KM-010 Chef) ساخت انگلستان به مدت 2 دقیقه به‌صورت خشک ترکیب شد. سپس مایعات شامل (عصاره گل انار، روغن، تخم‌مرغ، آب) اضافه گردید. سپس عمل اختلاط در دمای 26-27 درجه سانتی‌گراد انجام شد خمیر آماده شده به چانه‌های 50 گرمی قالب‌زنی شد و تخمیر اولیه و پوک کردن خمیر به مدت 45 دقیقه در دمای 35 درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس برای تخمیر نهایی به داخل گرمخانه در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 70 دقیقه قرار گرفت تا به حجم نهایی برسد. عملیات سرخ کردن در دمای 180 درجه سانتی‌گراد به مدت 2 دقیقه سرخ گردید. و بعد توسط کاغذ جاذب، روغن اضافه آن گرفته شد. نمونه‌ها در بسته‌های

و به‌عنوان پذیرنده الکترون عمل می‌کند (کریمی‌نژاد، 1382). یکی از محصولات شیرین حاصل از آرد گندم که با سرخ کردن عمیق¹ و مستقیم در روغن تولید می‌شود، دونات² است و محتوای چربی آن 10-26 درصد بوده که بستگی به شرایط سرخ کردن و فرمولاسیون دارد (پورحاجی و همکاران، 1390). غذاهای حاوی میزان بالای ترکیبات اسید چرب غیراشباع، بسیار مستعد اکسیداسیون هستند، یکی از مهمترین تغییراتی که در اثر اکسیداسیون چربی‌ها در ماده غذایی اتفاق می‌افتد، منجر به کاهش ارزش تغذیه‌ای می‌گردد (Aardt et al., 2004). استفاده از آنتی‌اکسیدان مناسب در بالا بردن ماندگاری محصولات غذایی موثر است (Jadhav, 1996). اگرچه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنعت غذا موثر است اما امروزه به دلیل سمیت و سرطان‌زایی مصرف آن‌ها در مواد غذایی کاهش یافته است (Botterweck et al., 2000).

مطالعات مختلفی در زمینه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در ماندگاری محصولات غذایی صورت گرفته است. Mildner-Szkudlarz و همکاران (2009)، تاثیر عصاره چای سبز در سه سطح غلظت 0/02 درصد، 0/1 درصد و 1 درصد به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در تولید بیسکویت مورد مطالعه قرار دادند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن عصاره برگ چای سبز با غلظت 1 درصد توانست شدت اکسیداسیون را در بیسکویت‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. همچنین بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره در غلظت 1 درصد مشاهده شد. در مطالعه‌ای دیگر پورحاجی و همکاران (1390)، به بررسی اثر افزودن عصاره چای سبز (در سطوح صفر، 50، 150 و 100) و اسید آسکوربیک (با سطوح صفر، 100، 150 و 200 پی‌پی‌ام) به خمیر دونات پرداختند. نتایج نشان داد که اندیس پراکسید در روز اول و هفتم نگهداری با افزایش اسید آسکوربیک و چای سبز کاهش یافت و تفاوت معنی‌داری بر روی طعم نشان داد که با افزایش چای سبز طعم گسی در دونات مشاهده شد. میراب (1395)، اثر عصاره تغلیظ شده پوست انار در مقادیر 0/5، 1 و 1/5 درصد بر ویژگی‌های حسی کیک پرداختند. نتایج نشان داد که برخی از ارزیاب‌ها به دلیل وجود طعم تلخ عصاره پوست انار در تیمار 1/5 درصد اشاره داشتند که این طعم تلخ را می‌توان به ترکیبات تاننی و مشتقات آن‌ها نسبت داد. با توجه به بررسی منابع مختلف، تاکنون پژوهشی در خصوص سینترستی گل انار و ویتامین B₃ در فرمولاسیون دونات انجام نشده است لذا هدف از این پژوهش؛ تاثیر افزودن عصاره گل انار (0/07، 0/55 و 0/04 درصد) و ویتامین B₃ (1/5، 1/9 و 2/3 درصد) به‌عنوان ترکیبی طبیعی جهت بهبود پایداری اکسیداتیو و زمان ماندگاری و حسی دونات است.

¹ Deep-fat frying

² Donuts (Doughnuts)

پلی‌اتیلنی بسته‌بندی و در دمای اتاق تا زمان انجام آزمون‌ها نگهداری شد (Funami et al., 1999).

جدول 1- فرمولاسیون تهیه دونات حاوی عصاره گل انار و ویتامین B₁₂

تیمار	آرد%	شیر%	شکر%	نمک%	خمیر%	تخم‌مرغ%	روغن%	وانیل%	بهبوددهنده%	گل انار%	ویتامین B ₁₂ %
1	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/055	1/9
2	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/055	1/9
3	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/04	1/9
4	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/04	2/3
5	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/055	1/5
6	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/055	1/9
7	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/07	1/9
8	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/055	1/9
9	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/04	1/5
10	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/055	1/9
11	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/055	2/3
12	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/07	1/5
13	100	60	1/6	0/8	0/4	1/2	1/25	0/2	0/3	0/07	2/3

*کلیه اعداد براساس درصد وزن آرد. این جدول چون با نرم افزار RSM انجام شده است نقاط تکرار در جدول نشان دهنده نقطه مرکزی میباشند.

آزمون اندازه‌گیری فنول کل عصاره گل انار

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو ارزیابی شد. نتایج براساس منحنی استاندارد اسید گالیک بر حسب میلی‌گرم در هر گرم عصاره بیان شد (D' Angelo et al., 2007).

$$DPPHsc\% = (A_{cont} - A_{samp}) / A_{cont} \times 100 \quad (1)$$

آزمون اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل انار

برای این منظور به 50 میکرولیتر از عصاره رقیق شده به 950 میکرولیتر محلول DPPH 0/1 نرمال اضافه شد. محلول حاصل به‌خوبی تکان داده شد و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت سپس جذب استاندارد با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر 517 نانومتر تعیین شد. درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد بر حسب رابطه (1) محاسبه شد: (D' Angelo et al., 2007).

اندیس پراکسید

مقدار 5 گرم از چربی استخراج شده در یک ارلن مایر ریخته و 30 میلی‌لیتر مخلوط اسید استیک و کلروفرم به آن اضافه، سپس 0/5 میلی‌لیتر محلول یدور پتاسیم به آن افزوده و به مدت 1 دقیقه در تاریکی نگه داشته شد. سپس 30 میلی‌لیتر آب مقطر با محلول نشاسته به آن افزوده و محلول با هیپوسولفیت سدیم 0/01 نرمال تا از بین رفتن رنگ آبی تیترا شد. عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی والان اکسیژن در کیلوگرم (meq/kg) توسط رابطه (2) (53-8 AOCS).

(2) عدد پراکسید = (گرم) حجم نمونه / (ml) مقدار مصرفی تیوسولفات سدیم × نرمالیت سدیم × 10000

اندیس پارا - آنیزیدین (P-AV)

ابتدا نمونه را وزن کرده درون ارلن 250 سی‌سی ریخته سپس حلال هگزان به آن افزوده و به مدت 24 ساعت در دمای محیط قرار داده بعد با کاغذ صافی و قیف صاف کرده و آن را در ظرفی که قبلاً وزن کردیم ریخته شد. ظرف حاوی روغن و حلال درون حمام آب گرم قرار گرفت تا حلال آن بخار شود. میزانی از روغن را برداشته و به آن 25 سی‌سی سی‌سی حلال ایزواکتان افزوده و آن را مخلوط کرده، سپس جذب با طول موج 350 نانومتر اندازه گرفته شد. و 2/5 سی‌سی محلول حاوی نمونه و ایزواکتان در 0/5 سی‌سی معرف پاراآنیزیدین حل گردید تا رنگ صورتی حاصل شد و به مدت 10 دقیقه در تاریکی قرار داده و دوباره جذب نمونه در 350 نانومتر خوانده شد (90-18 AOCS).

عدد اسیدیته

مقدار اسید چرب آزاد موجود در روغن توسط روش تیتراسیون اندازه گیری و براساس درصد اسید اولئیک بیان شد.

$$Q = (28/2 \times N \times V) / W \quad (2)$$

28/2 = وزن مولکولی اسید اولئیک

N = نرمالیت سود مصرفی

V = حجم سود مصرفی

اندیس توتوکس

اندازه گیری کل ترکیبات حاصل از اکسیداسیون اولیه و ثانویه که بر طبق رابطه زیر محاسبه شد:

(3) اندیس آنیزیدین + 2(اندیس پراکسید) = F-اندیس توتوکس

نتایج و بحث

نتایج آزمون ترکیبات آنتی اکسیدانی و فنولی عصاره گل انار

آزمون ترکیبات آنتی اکسیدانی یک روش سریع و دقیق برای اندازه گیری فعالیت ضد اکسایشی است که به طور گسترده به منظور تعیین فعالیت گیرندگی رادیکال آزاد ترکیبات خالص یا گیاهی مختلف به کار می رود. مقدار IC₅₀ عصاره گل انار برابر 0/044 میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. گالیک اسید به عنوان یک ترکیب استاندارد می باشد و پس از انجام آزمون فنول کل میزان آن در عصاره گل انار 41/97 میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. مرتضایی و همکاران (1392) که به بررسی هشت گیاه دارویی پرداختند نتایج نشان داد که مقدار ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی بیشتری مقدار در گیاه گل انار مشاهده شد. Kaur و همکاران (2006) در تحقیق خود فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گل انار را 81/6 درصد با متد (DPPH) بیان کردند.

نتایج آزمون پراکسید

نتایج افزودن عصاره گل انار و ویتامین B₃ به فرمولاسیون دونات و تاثیر آنها روی میزان اندیس پراکسید در روز پانزدهم در شکل 1 نشان داده شده است. نتیجه شاخص در این شکل این است که کمترین مقدار عدد پراکسید مربوط به تیمارهای با درصد بالای عصاره گل انار و ویتامین B₃ است، مطابق مدل به دست آمده از روش آماری سطح پاسخ، در این آزمون در مورد عصاره گل انار و ویتامین B₃ در روز پانزدهم معنی دار بوده است ($p < 0.05$). همانطور که مشخص است عدد پراکسید با افزایش میزان عصاره گل انار به صورت خطی و با افزایش ویتامین B₃ به صورت غیرخطی کاهش معنی داری یافته است ($p < 0.05$). ترکیبات پلی فنولی و آنتی اکسیدان موجود در گل انار توانایی قابل قبولی در مهار رادیکال های آزاد دارند که این امر می تواند روی پایداری اکسیداتیو ساختارهای حساس به حرارت موثر باشد لذا انتظار می رود عصاره گل انار با دارا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی مناسب فرآیند اکسیداسیون چربی ها را به تاخیر بیاورد و همچنین گل انار علاوه بر وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی و فنولی به ویژه پلی فنول هایی مانند تانن ها می باشد (Al-Muammar et al., 2012؛ مرتضایی و همکاران، 1392). همچنین ویتامین ها دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی و به عنوان یک عامل واسطه در جلوگیری از اکسیداسیون موثر می باشند (Zeng et al., 2009). تیمارهای دارای درصد گل انار و ویتامین B₃ بالاتر دارای اندیس

تیوباریتوریک اسید

10 گرم نمونه در 25 میلی لیتر آب مقطر و سپس با 25 سی سی کلرواستیک مخلوط شد. پس از فیلتر کردن مخلوط حاصل، 4 میلی لیتر محلول فیلتر شده با 1 میلی لیتر محلول TBA (0/06M) مخلوط و به مدت 10 دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از آن، لوله های حاوی نمونه با قرار گرفتن در دمای محیط به مدت 5 دقیقه سرد شد. نتایج به دست آمده به صورت میلی گرم معادل مالون آلدئید در کیلوگرم بیان شد (استاندارد ملی ایران شماره 10494).

سختی بافت

برای اندازه گیری سفتی محصول از دستگاه بافت سنج استفاده شد. بدین منظور ابتدا دونات با ابعاد 5 در 5 سانتی متر روی صفحه نگهدارنده قرار داده شد و از لود سل 500 کیلو نیوتن استفاده شد. پروپ استوانه ای شکل به قطر 50 میلی متر و با سرعت 100 میلی متر در دقیقه بافت را به میزان 4 میلی متر فشرده ساخت و حداکثر نیروی لازم جهت فشرده کردن بافت تعیین گردید که بیانگر میزان سفتی بافت بود. این آزمون در روز پانزدهم پس از پخت دونات ها انجام شد (AACC 74-09).

ارزیابی حسی

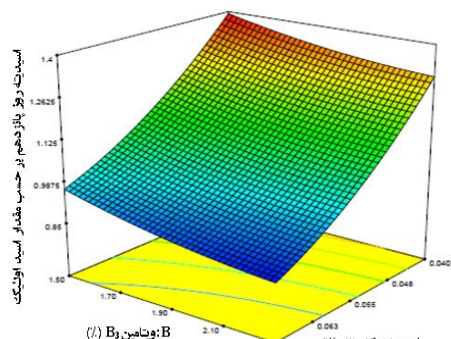
خصوصیات حسی نمونه ها توسط 8 ارزیاب آموزش دیده با استفاده از روش هدونیک 5 نقطه ای ارزیابی شد. (Hussein et al., 2011).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار Design Expert 8 و روش RSM انجام شد. کلیه آزمون ها در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند.

بهینه سازی فرمولاسیون

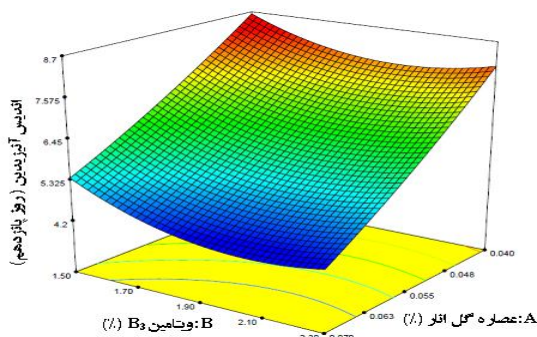
یک روش مفید برای بهینه سازی پاسخ های چندگانه استفاده از تکنیک بهینه سازی همزمان و توابع مطلوبیت است (Derringer & Suich, 1980). استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت، به منظور دستیابی به سطوح بهینه هر یک از متغیرهای مستقل، پاسخ های



شکل 2. نمودار سطح پاسخ اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی اسیدیت در روز پانزدهم

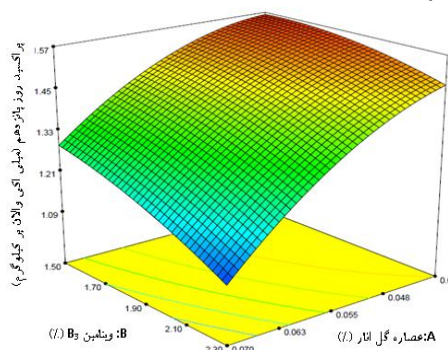
عدد آنیزیدین

نتایج افزودن عصاره گل انار و ویتامین B₃ به فرمولاسیون دونات و تاثیر آن روی میزان اندیس آنیزیدین در روز 15 در شکل 3 نشان داده شده است. نتیجه شاخص در این شکل این است که کمترین مقدار آنیزیدین مربوط به تیمارهای با درصد بالای هر دو متغیر است. مطابق مدل به دست آمده از روش آماری سطح پاسخ، در این آزمون در مورد عصاره گل انار و ویتامین B₃ در روز 15 معنی دار بوده است ($p < 0.05$). همانطور که مشخص است آنیزیدین با افزایش میزان عصاره گل انار به صورت خطی و با افزایش ویتامین B₃ به صورت غیرخطی کاهش معنی داری یافته است. از آنجایی که عصاره گل انار غنی از ترکیبات فنولی از قبیل گالیک اسید و الازیک اسید است این عوامل باعث جلوگیری از فساد اکسیداتیو و مانع از تولید این ترکیبات می شود. همچنین کاهش آنیزیدین را می تواند به اثر سینرژیستی این دو آنتی اکسیدان دانست. Dhillon و همکاران در سال 2013 مشاهده کردند که افزودن ترکیبات فنولیک پونه کوهی به فرمولاسیون نان به طور معنی داری می تواند بدون هیچ گونه تغییرات منفی در پخت، بهترین زمان ماندگاری را داشته باشد.



شکل 3- نمودار سطح پاسخ اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی آنیزیدین در روز پانزدهم

پراکسید پایین تری بوده که حاکی از آن است آنتی اکسیدان های گل انار به همراه ویتامین B₃ اثر سینرژیستی داشت و باعث تاخیر در اکسیداسیون می گردد. نتایج به دست آمده در طی این مطالعه با نتایج دیگر محققین مطابقت داشت Izzreen و همکاران (2011) به این نتیجه رسیدند که با افزودن آنتی اکسیدان های گیاهان مالزی در کیک، میزان پراکسید در طول مدت زمان نگهداری 15 روزه کاهش معنی داری پیدا نمود. پورحاجی و همکاران (1390) گزارش کردند که خاصیت آنتی اکسیدانی چای سبز و اسید آسکوربیک در فرمولاسیون دونات، اندیس پراکسید در طی بازه های زمانی مختلف کمتر روند افزایش دارد.



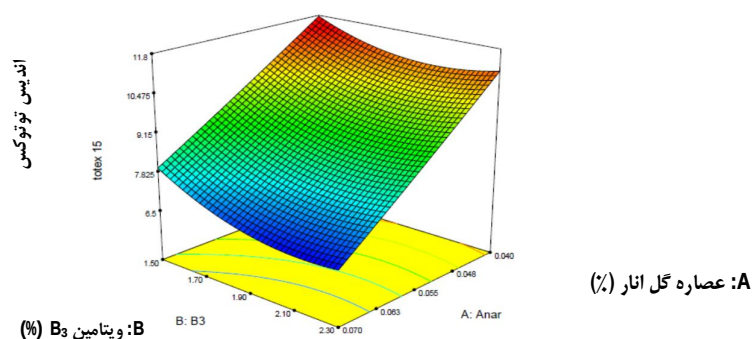
شکل 1- نمودار سطح پاسخ اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی پراکسید در روز پانزدهم

عدد اسیدیت

نتایج افزودن عصاره گل انار و ویتامین B₃ به فرمولاسیون دونات و تاثیر آن ها روی میزان اسیدیت در روز 15 در شکل 2 نشان داده شده است. نتیجه شاخص در این شکل این است که کمترین مقدار اسیدیت مربوط به تیمارهای با درصد بالای عصاره گل انار و ویتامین B₃ است. مطابق مدل به دست آمده از روش آماری سطح پاسخ، در این آزمون در مورد هر دو متغیر معنی دار بوده است ($p < 0.05$). همانطور که مشخص است رابطه معکوس و خطی بین گل انار و ویتامین B₃ با اسیدیت وجود دارد بدین معنی که با افزایش هر دو متغیر، میزان اسیدیت به طور معنی داری کاهش یافت. چون عصاره افزوده شده غنی از ترکیبات فنولیک است و ویتامین B₃ هم دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی است بخاطر همین دلیل باعث کاهش اسیدیت شده است. Mildner-Szkudlarz و همکاران (2009)، مشاهده کردند که استفاده از عصاره چای سبز در فرمولاسیون بیسکویت به طور معنی داری توانست شدت اکسیداسیون را کاهش دهد.

عدد توتوکس

نتایج افزودن عصاره گل انار و ویتامین B₃ به فرمولاسیون و تاثیر آن‌ها روی میزان توتوکس در روز 15 در شکل 4 نشان داده شده است. نتیجه شاخص در این شکل این است که کمترین مقدار توتوکس مربوط به تیمارهای با درصد بالای عصاره گل انار و ویتامین B₃ است. مطابق مدل به دست آمده از روش آماری سطح پاسخ، در این آزمون در مورد هر دو متغیر معنی دار بوده است ($p < 0.05$). همانطور که مشخص است رابطه معکوس و خطی بین

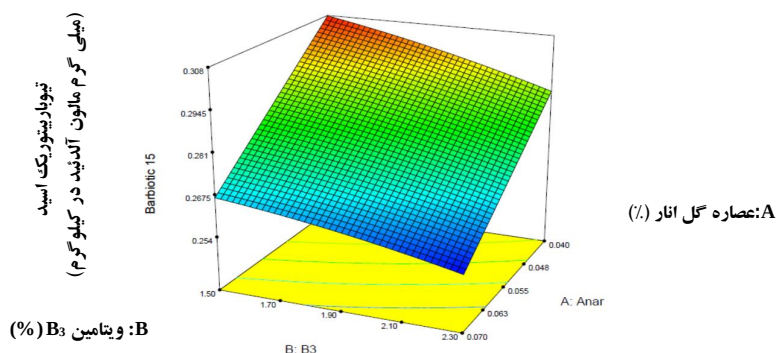


شکل 4- نمودار سطح پاسخ اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی توتوکس در روز پانزدهم

خطی بین گل انار و ویتامین B₃ با تیوباریتوریک اسید وجود دارد. بدین معنی که با افزایش عصاره گل انار و ویتامین B₃، میزان تیوباریتوریک کاهش یافته است و این پدیده را می‌توان به دلیل خاصیت سینرژیستی ویتامین B₃ و عصاره گل انار توجیه کرد. عربشاهی و همکاران (1393)، بیان کردند که افزودن عصاره فنولی برگ گیاه شاتوت و نعنا در فرمولاسیون بیسکویت، میزان تیوباریتوریک در طول مدت زمان نگهداری 90 روزه کاهش معنی‌داری پیدا نمود.

تیوباریتوریک اسید

نتایج افزودن عصاره گل انار و ویتامین B₃ به فرمولاسیون و تاثیر آن‌ها روی تیوباریتوریک در روز 15 در شکل 5 نشان داده شده است. نتیجه شاخص در این شکل این است که کمترین مقدار تیوباریتوریک مربوط به تیمارهای با درصد بالای عصاره گل انار و ویتامین B₃ است. مطابق مدل به دست آمده از روش آماری سطح پاسخ، در این آزمون در مورد هر دو متغیر در روز 15 معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$). و همانطور که مشخص است رابطه معکوس و

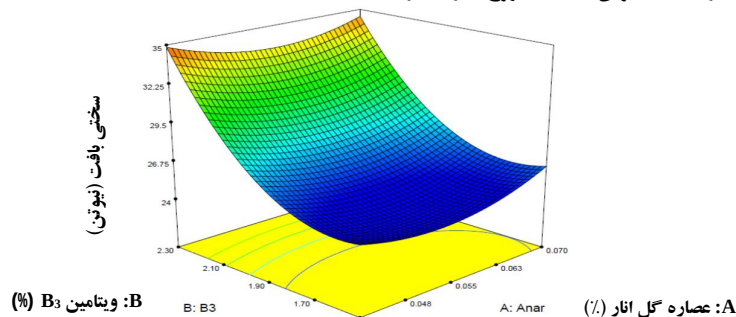


شکل 5. نمودار سطح پاسخ اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی تیوباریتوریک اسید در روز پانزدهم

خمیر شده به دنبال آن حجم کاهش یافته و بافت سفت و متراکم می‌گردد (Ajila et al., 2008). سفت شدن بافت محصولات صنایع پخت در طول مدت زمان نگهداری، فرآیند پیچیده‌ای است که عوامل نظیر رتروگراداسیون آمیلوپکتین، آرایش مجدد پلیمرها در ناحیه آمورف، کاهش مقدار رطوبت و یا توزیع رطوبت بین ناحیه آمورف و کریستالی در آن دخیل است (نقی‌پور و همکاران، 1392). نتایج حاصل با نتایج مجذوبی و همکاران (1392) مطابقت دارد.

سختی بافت

نتایج افزودن عصاره گل انار و ویتامین B₃ به فرمولاسیون و تاثیر آن‌ها روی سختی بافت در روز 15 در شکل 6 نشان داده شده است. نتیجه شاخص در این شکل این است که تنها ویتامین B₃ معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$). در حالی که عصاره گل انار معنی‌دار نبوده است ($p > 0.05$). همانطور که مشخص است سختی بافت با افزایش میزان ویتامین B₃ به صورت غیرخطی افزایش یافته است. ویتامین B₃ به دلیل اختلال در شبکه گلوتن سبب خروج گازها از

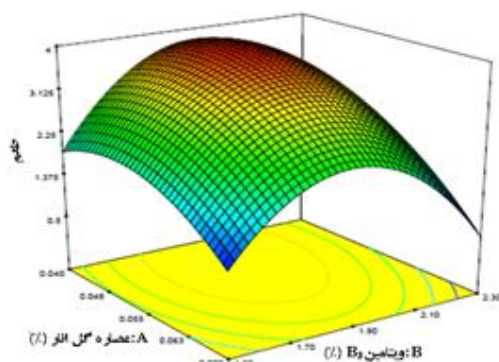


شکل 6- نمودار سطح پاسخ اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی سختی بافت در روز پانزدهم

نتیجه شاخص در این شکل این است که تنها عصاره گل انار معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$). در حالی که ویتامین B₃ معنی‌دار نبوده است ($p > 0.05$). همانطور که مشخص است با افزایش غلظت عصاره گل انار امتیاز طعم کاهش یافت.

ارزیابی حسی طعم

نتایج افزودن هر دو متغیر به فرمولاسیون و تاثیر آن‌ها روی طعم در روز اول در شکل 7 نشان داده شده است.



شکل 7- نمودار سطح پاسخ اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی ارزیابی حسی (طعم)

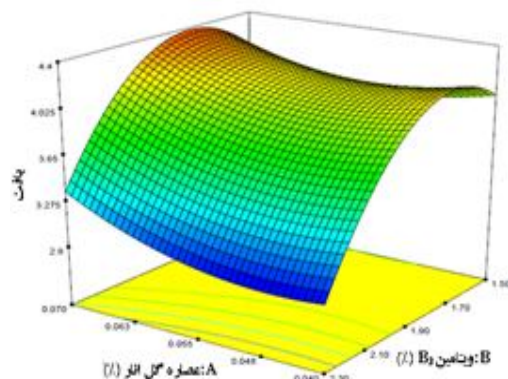
(Al-Muammar et al., 2012). نتایج حاصل با نتایج میراب (1395) که اثر عصاره پوست انار بر ویژگی‌های حسی یک پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که افزایش عصاره پوست انار به دلیل وجود پس طعم تلخ باعث کاهش طعم شد.

گالیک اسید از مهمترین ترکیب موجود در گل انار بوده که ساختار فنولی این ترکیب موجب فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی آن می‌شود و طعم مایل به تلخ به مواد فنلی نسبت داده شده است و همچنین این پس طعم را می‌توان به ترکیبات تاننی و مشتقات آن‌ها نسبت داد که با افزایش گل انار طعم گسی در دونات مشاهده شد

بافت

بافت به صورت غیرخطی کاهش یافت. ویتامین B₃ به دلیل اختلال در شبکه گلوتن سبب خارج شدن گازها از خمیر شده به دنبال آن بافت سفت می گردد و میزان رضایتمندی کاهش می یابد (Ajila et al., 2008).

نتایج افزودن هر دو متغیر به فرمولاسیون و تاثیر آن ها روی بافت در روز اول در شکل 8 نشان داده شده است. نتیجه شاخص در این شکل این است که تنها ویتامین B₃ معنی دار بوده است ($p < 0.05$). همانطور که مشخص است با افزایش ویتامین B₃ امتیاز

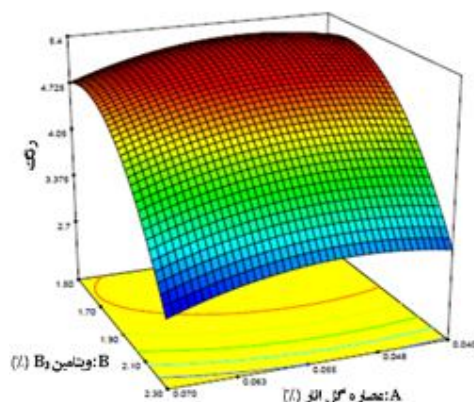


شکل 8- نمودار سطح پاسخ اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی ارزیابی حسی (بافت)

به عنوان یک شاخص تکمیل پخت از طریق واکنش های شیمیایی مانند واکنش میلارد همزمان با تشکیل پوسته در فرآورده های نانوائی، توسعه می یابد. در واقع با افزایش میزان ویتامین B₃ به دلیل جذب آب بیشتر در ساختار خود سبب کاهش واکنش میلارد می گردد. نتایج با یافته های پورحاجی و همکاران (1390) مطابقت دارد.

رنگ

نتایج افزودن هر دو متغیر به فرمولاسیون و تاثیر آن ها روی رنگ در روز اول در شکل 9 نشان داده شده است. نتیجه شاخص در این شکل این است که تنها ویتامین B₃ معنی دار بوده است ($p < 0.05$). با افزایش ویتامین B₃ امتیاز رنگ به صورت غیرخطی کاهش یافته است. میزان روشنایی رنگ سطحی فرآورده، اغلب

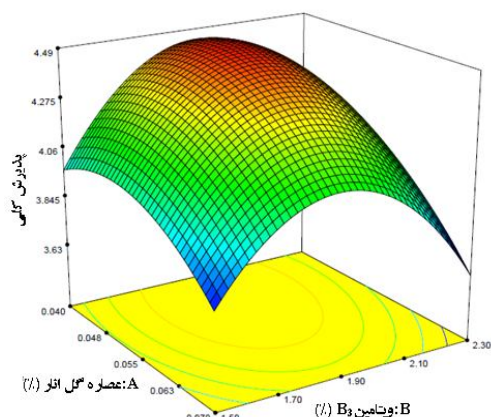


شکل 9- نمودار سطح پاسخ اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی ارزیابی حسی (رنگ)

داد که با افزایش عصاره گل انار و ویتامین B₃ پذیرش کلی دونات کاهش یافت ($p < 0.05$). (شکل 10)

پذیرش کلی

مطالعات نتایج صفات حسی، جهت بررسی پذیرش کلی نشان



شکل 10- نمودار سطح پاسخ اثر عصاره گل انار و ویتامین B₃ بر روی ارزیابی حسی (پذیرش کلی)

نتیجه‌گیری

امروزه با توجه به سرطان‌زایی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و لزوم کاهش مصرف آن‌ها، استفاده از محصولات حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این پژوهش با بررسی اثر افزودن عصاره اتانولی گل انار و ویتامین B₃ در تولید دونات مشخص گردید، افزایش عصاره گل انار و ویتامین B₃ دارای کمترین اندیس

پراکسید، اسیدیته، آنیزیدین، توتوکس و تیوباریتوریک نیز می‌باشد. و این پدیده را می‌توان به دلیل خاصیت سینرژیستی این دو ترکیب توجیه کرد. همچنین میزان رضایتمندی در تمام ویژگی‌های حسی کاهش یافت. در کل نتایج بهینه‌سازی فرمولاسیون نشان داد که خمیر دونات حاوی 0/07% عصاره گل انار و 1/97% ویتامین B₃ به‌عنوان بهترین تیمار پذیرفته شد.

منابع

- پورحاجی، ف.، کریمی، م.، توکلی پور، ح.، شیخ الاسلامی، ز.، 1390، بررسی اثر عصاره چای سبز و اسید آسکوربیک بر رنگ مغز و تخلخل دونات سرخ شده با استفاده از پردازش تصویر، همایش ملی علوم و صنایع غذایی، 9-10 اسفند ماه، صفحه: 9-1.
- عربشاهی، س.، مردانی قهفرخی، م.، 1393، تولید بیسکویت فراسودمند با استفاده از عصاره برگ گیاهان شاتوت (*Morus indica L.*) و نعنا (*Mentha spicata L.*)، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد 24 شماره 3.
- کریمی نژاد، م.، 1382، غنی‌سازی محصولات ماکارونی با ویتامین‌ها و آهن در شرکت تولیدی تک ماکارون، چهارمین همایش مراکز تحقیق و توسعه صنایع و معادن، 18-19 آذر، صفحه: 1-9.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، اندازه‌گیری اسید تیوباریتوریک در روغن‌ها و چربی‌های خوراکی، شماره 10494.
- مجدوبی، م.، منصوری، ح.، فلسفی، ر.، فرحناکی، ع.، 1394، تاثیر پودر هسته خرما بر برخی ویژگی‌های خمیر بیسکویت و بیسکویت سخت. مقاله علوم غذایی و تغذیه، شماره 2، سال دوازدهم، صفحه: 5-14.
- میراب، ب.، 1395، اثر عصاره تغلیظ شده پوست انار و بر هضم نشاسته، ویژگی‌های بافتی و حسی کیک، پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.
- مرتضایی، س.، رفیعیان، م.، 1392، مقایسه غلظت ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی هشت گیاه دارویی. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دوره دوازدهم، صفحه: 530-519.
- نقی پور، ف.، کریمی، م.، حبیبی، م.، خداپرست، م.، شیخ الاسلامی، ز.، 1392، بررسی امکان تولید کیک بدون گلوتن با استفاده از آرد سورگوم و صمغ‌های گوار و گزانتان. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره 41، دوره 10.
- AOCS., 1998. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign, IL: AOCS press.
- AACC., 1999. Approved method of the American Association of Cereal Chemists. St. Paul: American Association of Cereal Chemists. St.Paul.Minn.
- Al- Muammar, M.N., Khan, F., 2012. The preventive role of the pomegranate. *Journal Nutrition*. 28: 595-604.

- Ajila, C. M., Leelavathi, K. & Prasada Rao, U. J. S., 2008. Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuit with the incorporation of mango peel powder. *Journal of Cereal Science*, 48: 319-326.
- Aardt, M.V., Duncan, S.E., Long, T.E., Keefe, S.F., Marcy, J.E. and Sim, S.R., 2004. Effect of antioxidant on oxidative stability of edible fats and oils: thermogravimetric analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 587-591.
- Botterweck, A.A.M., Verhagen, H., Goldbohm, R.A., Kleinjans, J., and Brandt, P.A.V.D., 2000. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results analyses in the Netherlands cohort study. *Food Chemistry and Toxicology*, 38: 599-605.
- Cheng Sh, Bassiri A, Jalali H., 2013. Evaluation of Antioxidant Activity of Fennel (*Foeniculum Seed* Extract on Oxidative Stability of Olive Oil. *Journal of Chemical Health Risks*, 3(2): 53-61.
- Dhillon G K, Kaur A, and Ahluwalia P., 2013. Effect of Oregano Herb on Dough Rheology and Bread Quality. *International Journal of Food Nutrition and Safety*, 4(1): 17-22.
- D' Angelo, S., Amelia, C., Raimo, M., Salvatore, A., Zappia, V. and Galletti, P., 2007. Effect of Reddening-Ripening on the Antioxidant Activity of Polyphenol Extracts from Cv. 'Annurca' Apple Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22(24): 2277-2222.
- Derringer, G. & Suich, R., 1980. Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of quality technology*, 12: 214-219.
- Funami T, Funami M, Tawada T, and Nakao Y., 1999. Decreasing oil uptake of doughnuts during deep fat frying using curdlan. *Journal of Food Science*, 64(5): 883-888.
- Hussein EA, El-Beltagy AE, Gaafor AM., 2011. Production and Quality Evaluation of Low Calorie cake. *American Journal of Food Technology*, 6(9): 827-834.
- Huang TH, Peng G and Kota BP., Anti-diabetic action of *Punica granatum* flower extract: activation of PPAR-gamma and identification of an active component. *Toxicology and Applied Pharmacology*.
- Izzreen, I. and Noriham, A., 2011. Evaluation of the antioxidant potential of some Malaysian herbal aqueous extracts as compared with synthetic antioxidants and ascorbic acid in cakes *International Food Research Journal*, 18: 583-587.
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D. and Madhavi, D.L., 1996. Lipid oxidation in biological and food system. In Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K. (Eds). *Food Antioxidants Technological, Toxicological and Health Perspectives* pp. 5-63. Marcel Dekker: New York.
- Kaur, G., Jabbar, Z., Ather, M & Alam, M., 2006. *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 984-993.
- Mildner-Szkudlarz S, Zawirska-Wojtasiak R, Obuchowski W and Gosliński M., 2009. Evaluation of antioxidant activity of green tea extract and its effect on the biscuits lipid fraction oxidative stability. *Journal of Food Science*, 74(8): 362-370.
- Zeng, X., Cheng, K, W., Jiang, Y., Lin, Z, X., Shi, J, J., Ou, S, Y., Chen, F., 2009. Inhibition of acrylamide formation by vitamins in model reactions and fried potato strips. *Journal of Food Chemistry*, 116: 34-39.



Effect of pomegranate flower extraction and vitamin B₃ on the roasted doughnut's durability and sensory features

M. Heydari Ashkezari¹, M. Salehifar^{2*}

Received: 2017.12.17

Accepted: 2018.04.16

Introduction: One of the useful methods to increase the roasted product's durability is the addition of antioxidants. The antioxidants can replace the synthetic antioxidant in doughnut. One of the problems related to doughnut is oxidative corruption in industrial type. The purpose of this study was to extract pomegranate flower extraction and use of vitamin B₃ as two natural antioxidants in doughnuts.

Materials and methods: In this study, the effect of three variation such as pomegranate flower extraction (0.07, 0.55 and 0.04 percent), vitamin B₃ (1.5, 1.9 and 2.3 percent) on oxidation features (peroxide index, acidity, anisidine, totox and Thiobarbituric acid), tissue obstruction and sensory evaluation (taste, tissue, color, scent and total acceptance) were evaluated and analyzed in the research. The mean comparison of examined samples was carried out using RSM method and central cube design (CCD).

Results & discussion: The obtained results showed that adding pomegranate flower extraction and vitamin B₃ to doughnut caused significant decrement of peroxide index, anisidine, totox, acidity and Thiobarbituric acid in 15th day. While tissue stiffness increased with increasing vitamin B₃ on the 15th day. The sensory evaluation also expressed that increasing pomegranate flower extract's percentage and vitamin B₃ decreased total acceptability in all sensory features. Results of optimization showed the doughnut samples containing 0.07% pomegranate flower extraction and 1.97% vitamin B₃ were accepted as the closest samples to the control sample and as the foremost treatment from sensory and durability point of view.

Key words: Natural Antioxidant, Pomegranate Flower Extraction, Vitamin B₃, Lipid (fat) Oxidation, Donut.

1. M.SC of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

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



ارزیابی فعالیت ضد میکروبی دو سویه لاکتوباسیلوس ایزوله شده از پنیر سنتی متال بر زمان ماندگاری دوغ

سعید افضلی¹ - محمدرضا عدالتیان دوم^{2*} - محمدباقر حبیبی نجفی³ - مصطفی مظاهری تهرانی³

تاریخ دریافت: 1396/11/11

تاریخ پذیرش: 1397/03/22

چکیده

در این تحقیق، اثر ضد میکروبی دو لاکتوباسیلوس برویس M₂ و M₄ ایزوله شده از پنیر متال بر آلودگی‌های میکروبی و قارچی در دوغ بررسی شد. سویه‌ها در سطوح 10⁶ و 10⁸ cfu/ml تلقیح و یک نمونه شاهد بدون تلقیح در نظر گرفته شد. نمونه‌ها در دماهای 4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد نگهداری و در فواصل زمانی مشخص آزمون‌های میکروبی و حسی انجام شد. نمونه تلقیح شده با M₄10⁶ بالاترین اثر ضد میکروبی در هر 3 دمای نگهداری را داشت. برای بررسی تولید گاز، نمونه شاهد و نمونه M₄10⁶ در 37 درجه سانتی‌گراد نگهداری و هر 7 روز ارزیابی شد. نتایج کپک و مخمر در 4 درجه سانتی‌گراد، نمونه شاهد روز 50 نگهداری، مثبت اما نمونه M₄10⁶، از نظر شمارش کپک و مخمر روز 60 نگهداری منفی بود. در 25 درجه سانتی‌گراد، نمونه شاهد در روز 14 نگهداری کپک زده ولی نمونه M₄10⁶، روز 21 نگهداری سالم بود. در 37 درجه سانتی‌گراد، نمونه شاهد روز 7 نگهداری شمارش کپک و مخمر، مثبت بود، اما نمونه M₄10⁶ روز 14 نگهداری تست کپک و مخمر منفی بود. ارزیابی تولید گاز، در 37 درجه سانتی‌گراد نمونه شاهد روز سوم، دچار بادکردگی شده ولی نمونه M₄10⁶ روز 14 نگهداری، تولید مقدار کمی گاز کرده بود. در 25 درجه سانتی‌گراد نمونه شاهد روز 14 نگهداری تولید گاز کرده اما نمونه M₄10⁶ تولید گاز نداشت. آزمون‌های کلی فرم، استافیلوکوکوس و اشرشیاکلی نمونه دوغ M₄10⁶ منفی بود. ارزیابی حسی نمونه‌های تلقیح شده با لاکتوباسیلوس‌ها به نمونه شاهد برتری داشت به‌طوری‌که نمونه M₄10⁶ موجب افزایش عمر انبارمانی و کاهش فساد دوغ شده است.

واژه‌های کلیدی: پنیر متال، لاکتوباسیلوس برویس، فعالیت ضد میکروبی، ماندگاری دوغ

مقدمه

اختلاط ماست با آب و مقداری نمک به‌دست می‌آید. در ترکیه، ایران متداولترین نوشیدنی تخمیری است. این فراورده را بر اساس طبقه‌بندی‌های فوق، می‌توان در گروه فراورده‌های رقیق شده یا نوشیدنی‌ها قرار داد (مظاهری و همکاران، 1395).

فساد غذایی مربوط به مخمرها مسئله قابل توجهی برای صنایع لبنی و نوشیدنی می‌باشد. توانایی آنها برای بقاء در دماهای پایین و pH اسیدی به آنها اجازه می‌دهد باعث فساد مکرر غذاهایی مانند ماست، پنیر و آبمیوه‌ها شوند (Cangella et al. 1998).

مخمرها، از بزرگترین گروه میکروارگانیسم‌ها می‌باشند که باعث فساد نوشابه‌های بدون الکل، آبمیوه‌ها، فراورده‌های لبنی و نوشیدنی‌های لبنی تخمیری مانند دوغ می‌شوند و تولید فراورده‌های متابولیکی جانبی مانند CO₂ و اسید می‌کند (Ashurst, 2005). سه گونه مخمر عامل کف‌دار شدن، بادکردگی بطری و ایجاد طعم نامطلوب در دوغ و ماست در طی نگهداری می‌شوند که شامل مخمر کلپورومایس لاکتیس⁸، ساکارومایس سرویزیه¹ و گونه‌های جنس

دوغ یک فراورده لبنی تخمیری است که از اختلاط ماست با آب و مقداری نمک به‌دست می‌آید. این نوشیدنی فرحبخش در ایران و سایر کشورهای خاورمیانه به‌طور گسترده مصرف می‌شود (Tamime and Robinson, 2001).

فراورده‌های لبنی تخمیری در بسیاری از کشورهای آسیا، خاورمیانه و عربی با نام‌های متفاوتی چون لسی⁴، دوغ، ماست و ایران⁵ ایران⁵ و در کشورهای اسکانندیناوی با عنوان شیر اسیدوفیلوس، ویلی⁶ و تافیل⁷ شناخته می‌شود. دوغ یک فراورده لبنی تخمیری است که از

1 و 2 - به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

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

DOI: 10.22067/ifstrj.v14i5.70645

⁴ Lassi.

⁵ Ayran

⁶ Viili

⁷ Tafil

¹ *kluyveromyces lactis*

ژئوتریکوم² می باشد (Gülmez et al., 2003., Tamang and Fleet, 2009).

باکتری‌های اسید لاکتیک و همچنین متابولیت‌های حاصل از آنها، به عنوان مواد حفاظت کننده طبیعی یا نگهدارنده‌های زیستی در مواد غذایی و خوراک دام، کلم ترش و علوفه استفاده می‌شود. اثر محافظتی ایجاد شده عمدتاً ناشی از تشکیل متابولیت‌هایی از قبیل اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، رقابت برای مواد مغذی و تولید مواد ضد میکروبی می‌باشد. باکتری‌های اسید لاکتیک یا به طور طبیعی و ذاتی در مواد غذایی وجود دارد و یا به صورت خالص به محصولات غذایی اضافه می‌شود، آنها بی‌ضرر هستند و عموماً به عنوان میکروارگانیسم‌های ایمن (GRAS) شناخته شده‌اند و حتی در مواردی موجب بهبود سلامت انسان و حیوانات می‌شود. برآورد شده است که 25 درصد رژیم غذایی اروپا و همچنین 60 درصد رژیم غذایی بسیاری کشورهای در حال توسعه را غذاهای تخمیری تشکیل می‌دهد (Stiles, 1996).

باکتری‌های اسید لاکتیک، به عنوان آغازگر در فراورده‌های لبنی مانند شیر اسیدوفیلوس، ماست، پنیر کاتیج و انواع پنیر سخت و نرم استفاده می‌شود (Carr et al., 2002). باکتری‌های اسید لاکتیک انواع ترکیبات ضد میکروبی مانند اسید لاکتیک و اسید استیک که موجب کاهش pH در تخمیر شده و همچنین پراکسید هیدروژن، اسید فرمیک، اسید پروپیونیک و دی‌استیل تولید می‌کنند (Lindgren & Dobrogosz, 1990).

فساد قارچی مواد غذایی یک پدیده جهانی گسترده است. تخمین زده شده است که 5-10 درصد تولید غذای جهان در نتیجه فساد قارچی از بین می‌رود. (Pitt and Hocking 1999). علاوه بر این، عواقب مالی منفی ناشی از فساد قارچی مواد غذایی یک نگرانی جدی به شمار می‌رود. رشد قارچ‌ها روی مواد غذایی می‌تواند منجر به تولید میکوتوکسین‌ها شود که برای انسان‌ها و حیوانات سمی شناخته شده است (Sweeney and Dobson, 1998).

کرولی و همکاران (2012) به بررسی مقایسه قدرت تکنولوژیکی دو گونه لاکتوباسیلوس پلانتراروم جدا شده و ارزیابی توانایی آنها برای جلوگیری از فساد مخمرهای رودوتورولا در دو ماده غذایی ماست و آب پرتقال بوده است. نتایج نشان دادند که هر دو لاکتوباسیل دارای فعالیت ضد قارچی قوی روی غیرفعال کردن مخمرهای عامل فساد می‌باشد.

خمیری و همکاران در سال 1395، به بررسی فعالیت ضد مخمری لاکتوباسیلوس برویس و انتروکوکوس فاسیوم جدا شده از چال (شیر

تخمیری شتر) بر مخمرهای عامل فساد مواد غذایی در دوغ پرداختند. نتایج نشان داد لاکتوباسیلوس برویس و انتروکوکوس فاسیوم دارای بازدارندگی قوی علیه رودوتورولا گلو تینیس می‌باشند.

پنیر متال، نوعی فراورده لبنی پارس آباد دشت مغان است که در برخی از کارگاه‌های محلی تولید می‌شود. در تولید این پنیر هیچ نوع استارتی استفاده نمی‌شود و تنها رنین طبیعی افزوده شده است. باکتری‌های اسید لاکتیک آغازگر در صورت استفاده، در آغاز فرآیند تولید پنیر، به شیر اضافه می‌شوند. باکتری‌های اسید لاکتیک غیرآغازگر در ماتریکس پنیر در نتیجه آلودگی حین فرآیند تولید یا از محیط به شیر وارد می‌شوند. از نظر صنعتی، کاربرد کشت‌های آغازگر به ویژه باعث ایجاد کیفیت ثابت در محصول می‌گردد ولی منجر به از دست رفتن ویژگی‌های منحصر به فرد و اصیل محصولات سنتی خواهد شد. به همین دلیل، جستجو و کاوش سویه‌های وحشی موجود در طبیعت و نیز در محصولات تخمیری نظیر پنیرهای حاصل از شیر خام که به صورت سنتی تولید می‌شوند، پتانسیل جداسازی نژادهای جدید جهت تولید فراورده‌های لبنی جدید با طعم طبیعی را دارا می‌باشند (عزیزی و همکاران، 1395).

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر ضد میکروبی گونه‌های جنس لاکتوباسیلوس جدا شده از پنیر متال بر آلودگی میکروبی و قارچی و زمان ماندگاری دوغ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی اثر ضد میکروبی از دو سویه لاکتوباسیلوس برویس *Lactobacillus* M2 (*Lactobacillus brevis* KX572376) و M4 (*brevis* KX572378) ایزوله شده از پنیر سنتی متال که قبلاً توسط تکنیک‌های مولکولی و واکنش زنجیره‌های پلیمرز PCR با روش توالی‌یابی ژن rRNA 16S تا حد جنس و گونه شناسایی شده بودند استفاده شد (عزیزی و همکاران، 1395).

آماده‌سازی سویه‌های لاکتوباسیلوس جهت تلقیح

کلنی حاصل از رشد ایزوله‌های لاکتوباسیلوس برویس به مدت 24 ساعت در محیط کشت MRS براث و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از ظهور کدورت در لوله‌های آزمایش، از هر ایزوله به میزان یک میکرولیتر درون میکروتیوپ 1/5 استریل و سپس به مدت 10 دقیقه با سرعت 4000 دور در دقیقه سانتریفوژ شد و مایع رویی دور ریخته شد. رسوب حاصل دو بار به وسیله محلول رینگر استریل شسته و پس از سانتریفوژ مجدد، سوسپانسیون میکروبی تهیه شد (علیزاده و همکاران، 1389).

² *Saccharomyces cerevisiae*

³ *Geotrichum* sp.

تولید دوغ

تولید دوغ مطابق با استاندارد ملی ایران شماره 2453 صورت پذیرفت. دو سویه لاکتوباسیلوس برویس پس از شست و شو با رینگر همراه آغازگر به میزان یک درصد به شیر پاستور شده (10 دقیقه در دمای 90 درجه سانتی‌گراد) در دمای 37 درجه سانتی‌گراد تلقیح شد. سویه‌های لاکتوباسیل در سطوح جمعیتی 10^6 و 10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر تلقیح شدند و یک نمونه بدون تلقیح سویه به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد، تخمیر در دمای 37 درجه سانتی‌گراد تا رسیدن pH به 4/6 ادامه یافت (Crowley et al., 2012).

همچنین به‌منظور ارزیابی تولید گاز در بطری، تولید دوغ در مقیاس صنعتی در ظروف یک لیتری در پیلوت لبنیات دانشگاه انجام گرفت. به‌منظور بررسی تولید گاز در بطری هم یک نمونه شاهد و یک نمونه تلقیح شده با سویه $M_4 10^6$ در انکوباتور 37 و یک نمونه شاهد و $M_4 10^6$ در دمای اتاق قرار داده شد.

بررسی خصوصیات میکروبی، حسی و فیزیکی‌شیمیایی دوغ در طی 60 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد هر 10 روز یک بار و در دمای 25 درجه سانتی‌گراد 21 روز هر 7 روز یک بار و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد 14 روز هر 7 روز یک بار بررسی شد.

ارزیابی میکروبی

شمارش کلی‌فرم‌ها، بر اساس استاندارد ملی ایران شماره (1 و 2)- 5486، شمارش/شریشیاکلی، بر اساس استاندارد ملی ایران شماره 5234 و 5486، شمارش کپک و مخمر، بر اساس استاندارد ملی ایران شماره 997 و شمارش استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت، بر اساس استاندارد ملی ایران شماره 3-6806 انجام شد.

ارزیابی فیزیکی‌شیمیایی

خصوصیات pH و اسیدیته بر اساس استاندارد ملی ایران شماره 2852 انجام شد.

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی، مطابق استاندارد ملی ایران شماره 4691 انجام شد. ارزیابی حسی ویژگی‌هایی همچون طعم و مزه، بافت، رنگ و پذیرش کلی توسط 10 نفر از دانشجویان کارشناسی‌ارشد صنایع غذایی مورد ارزیابی قرار گرفت، که به هر صفت نمره 1 تا 5 را به‌ترتیب برای کیفیت‌های خیلی بد، بد، متوسط، خوب و خیلی خوب دادند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش، داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با آزمون فاکتوریل آنالیز شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار Mini Excel (Version 16) Tab و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2013 استفاده شد. تیمارهای این تحقیق شامل: تعداد سویه در دو سطح (دو ایزوله لاکتوباسیلوس برویس M_4 و M_2)، سطوح تلقیح در سه سطح (صفر، 10^6 و 10^8)، دما در سه سطح مجزا به‌صورت (دمای 4 درجه سانتی‌گراد در 7 سطح زمان نگهداری، دمای 25 درجه سانتی‌گراد در 4 سطح زمان نگهداری، دمای 37 درجه سانتی‌گراد در 3 سطح زمان نگهداری) می‌باشند.

نتایج و بحث

در جدول 1، نتایج تغییرات pH نمونه‌های دوغ تولیدی طی 60 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، به‌صورت میانگین دو تکرار گزارش شده است. نتایج نشان می‌دهد بیشترین تغییرات pH نمونه‌های دوغ، مربوط به نمونه دوغ تلقیح شده با سویه $M_4 10^8$ از 4/41 به 3/97 (با کاهش 0/44 صدم) در طی 60 نگهداری بود و نمونه شاهد با کاهش pH، از 4/48 به 4/20 (کاهش 0/28 صدم) کمترین تغییر را طی دوره نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌خود اختصاص می‌دهد. بررسی‌ها نشان می‌دهد نمونه‌های دوغ تلقیح شده با گونه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک، به دلیل تولید اسیدهای آلی، موجب کاهش چشمگیر pH می‌شوند.

جدول 1- تغییرات pH نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

نمونه	روز تولید	روز 10	روز 20	روز 30	روز 40	روز 50	روز 60	تغییرات pH (Δ pH)
Control	4/48 ^a	4/41 ^{bc}	4/32 ^{gh} ±0/028	4/31 ^{gh} ±0/014	4/29 ^{hi} ±0/014	4/22 ^{kl} ±0/028	4/20 ^{mn} ±0/035	0/28
$M_2 10^6$	4/40 ^{cd}	4/34 ^{fg} ±0/014	4/27 ^{ig} ±0/028	4/26 ^{gk} ±0/021	4/25 ^{jk} ±0/007	4/12 ^{mn} ±0/007	4/09 ⁿ ±0/014	0/31
$M_2 10^8$	4/48 ^{ab}	4/37 ^{ef} ±0/021	4/31 ^{gh} ±0/028	4/28 ^{hi} ±0/014	4/26 ^{jk} ±0/014	4/18 ^{lm} ±0/021	4/12 ^{mn} ±0/028	0/36
$M_4 10^6$	4/39 ^{de}	4/35 ^{de} ±0/014	4/32 ^{gh} ±0/021	4/30 ^{hi}	4/28 ^{hi} ±0/014	4/19 ^{lm} ±0/014	4/05 ^{mn} ±0/014	0/34
$M_4 10^8$	4/41 ^{bc}	4/33 ^{gh} ±0/021	4/29 ^{hi} ±0/021	4/27 ^{hi} ±0/021	4/25 ^{jk} ±0/007	4/12 ^{mn} ±0/035	3/97 ⁿ ±0/035	0/44

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح $\alpha=5\%$ یا ($p\text{-value}<0.05$) می‌باشد

نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به‌صورت میانگین دو تکرار را

جدول 2، روند تغییرات pH نمونه‌های دوغ تولیدی طی 21 روز

نشان می‌دهد. نتایج روند تغییرات pH نمونه‌های دوغ نشان‌دهنده این است که بیشترین تغییرات pH، مربوط به نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{410}^8 ، از 4/20 به 3/73 (کاهش 0/47) در طی 21 روز نگهداری، بود و کمترین روند تغییرات را نمونه شاهد از 4/35 به 3/98 (کاهش 0/37) طی دوره نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد نشان داد.

جدول 2- تغییرات pH نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد

نمونه	روز تولید	روز 7	روز 14	روز 21	تغییرات pH (Δ pH)
Contorol	4/35 ^a	4/13 ^{cd} ±0/021	4/07 ^{fg} ±0/035	3/98 ^g ±0/014	0/37
$M_2 10^6$	4/24 ^{ab}	4/16 ^{bc} ±0/014	3/96 ^{ef} ±0/021	3/83 ^{fg} ±0/021	0/41
$M_2 10^8$	4/23 ^{bc}	4/11 ^{cd} ±0/021	3/84 ^{fg} ±0/028	3/76 ^g ±0/028	0/47
$M_4 10^6$	4/26 ^{ab}	4/17 ^{bc} ±0/176	3/94 ^{fg} ±0/028	3/84 ^g ±0/014	0/42
$M_4 10^8$	4/20 ^{bc}	4/05 ^{de} ±0/042	3/86 ^{fg} ±0/014	3/73 ^g ±0/049	0/47

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح $\alpha=5\%$ یا ($p\text{-value}<0.05$) می‌باشد.

و اصلی باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشد که باعث کاهش pH و مهار بسیاری از میکروارگانیسم‌ها می‌شود. باکتری‌های اسید لاکتیک هتروفرمنتاتیو مانند لاکتوباسیلوس برویس، در حضور گیرنده‌های الکترونی خارجی اسید استیک نسبتاً زیادی تولید می‌کند، این در حالی است که اسید پروپیونیک به مقدار ناچیزی تولید می‌شود. اسید پروپیونیک و استیک جذب اسید آمینه را مهار می‌کند (Eklund, 1989).

در جدول 3، نتایج تغییرات pH نمونه‌های دوغ تولیدی طی 14 روز نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به‌صورت میانگین دو تکرار گزارش شده است. نتایج نشان می‌دهد روند تغییرات pH نمونه‌های دوغ در طی دوره نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد بیشترین کاهش، مربوط به نمونه دوغ تلقیح شده با M_{410}^8 از 4/17 به 3/6 (0/57) در روز 14 نگهداری و کمترین تغییرات pH، مربوط به نمونه شاهد از 4/35 به 3/95 (0/40 کاهش) در طی دوره نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد بوده است. اسید لاکتیک متابولیت عمده

جدول 3- تغییرات pH نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد

نمونه	روز تولید	روز 7	روز 14	تغییرات pH (Δ pH)
Contorol	4/35 ^a	4/20 ^{cd} ±0/028	3/95 ^e ±0/028	0/4
$M_2 10^6$	4/23 ^{bc}	3/87 ^g ±0/014	3/75 ^{hi} ±0/014	0/48
$M_2 10^8$	4/20 ^{cd}	4/02 ^{de} ±0/007	3/7 ^g ±0/021	0/5
$M_4 10^6$	4/26 ^b	3/88 ^h ±0/021	3/78 ⁱ ±0/028	0/48
$M_4 10^8$	4/17 ^d	3/88 ⁱ ±0/042	3/6 ^h ±0/014	0/57

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح $\alpha=5\%$ یا ($p\text{-value}<0.05$) می‌باشد.

بیشتر از نمونه شاهد یا کنترل بود که یکی از دلایل، فعالیت ضدقارچی سویه‌های لاکتیکی مورد استفاده در تولید دوغ می‌باشد. از طرف دیگر بر خلاف مطالعه حاضر، برخی محققان نشان دادند که افزودن باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس، نسبت به استارتر ماست بر pH آن، تاثیری ندارد. بنابراین تفاوت در تغییرات pH نمونه‌های مختلف دوغ را می‌توان به گونه‌ها و نژادهای مختلف باکتریایی نسبت داد (Delavenne et al. 2012).

بر اساس نتایج جداول مربوط به pH، در طول زمان نگهداری، در ماه‌های 4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد، بیشترین تغییرات در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و کمترین آن، در دمای 4 درجه سانتی‌گراد رخ داده است و نشان می‌دهد که با افزایش دما روند تولید اسید افزایش

از آنجا که نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{410}^8 (باکتری لاکتوباسیلوس برویس) به میزان بالاترین سطح، یعنی 10^8 cfu/ml تلقیح شده است، بنابراین منطقی به‌نظر می‌رسد که بیشترین کاهش pH مربوط به نمونه دوغ تلقیح شده با این سویه و با این مقدار باشد و اما بین دو سویه M_2 و M_4 ، که هر دو به‌عنوان لاکتوباسیلوس برویس شناسایی شده‌اند، بدیهی است که قدرت تولید اسید و کاهش pH بین سویه‌های متفاوت از یک گونه، می‌تواند متغیر باشد که این پدیده به اختلافات درون گونه‌ای بر می‌گردد. متابولیت‌های زیادی در فعالیت ضد میکروبی و ضدقارچی باکتری‌های اسید لاکتیک نقش دارند که اسیدهای آلی یکی از این عوامل هستند. نتایج هم مبین این حقیقت هستند که میزان اسیدها (اسیدپته) در نمونه‌های تیمار شده با سویه‌ها،

مخمر در استاندارد دوغ ایران (شماره استاندارد 2453)، که حداکثر 100 Cfu/ml می باشد، کمتر بوده و بنابراین قابل قبول می باشد. کپک و مخمرها از میکروارگانیسم های معمول فساد مواد غذایی مانند محصولات تخمیری شیر، پنیر، نان و همچنین علوفه و یونجه ذخیره شده می باشد (Bonestroo, Dewit, Kusters, & Rombouts, 1993). اسید پروپیونیک در pH های پایین، رشد قارچ ها را کاهش می دهد و در pH کمتر از 4/5، روی غشاء قارچ ها تاثیر گذاشته و آنها را غیر فعال می کند (Woolford, 1984a). نمک اسید پروپیونیک مانند پروپیونات سدیم و آمونیوم اثر مشابهی در برابر مخمرها و کپک ها در pH پایین از خود نشان می دهد (Woolford, 1984b).

می یابد که این کاهش pH مربوط به تولید اسیدهای آلی توسط لاکتوباسیلوس ها شامل اسید لاکتیک، استیک و پروپیونیک می باشد (Eklund, 1989).

جدول 4، نتایج شمارش کپک و مخمر، کلیفرم، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی طی 60 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی گراد را نشان می دهد، به طوریکه که نمونه شاهد در روز 50 نگهداری، از نظر شاخص های میکروبی غیر قابل قبول می باشد (شکل 1). در حالیکه، شمارش کپک و مخمر در نمونه دوغ تلقیح شده با سویه لاکتوباسیلوس برویس M_{410}^{6} ، $0/3 \times 10^2$ CFU/ml در روز 60 نگهداری می باشد (جدول 4)، که در مقایسه با میزان مجاز کپک و

جدول 4- نتایج میکروبی نمونه های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 4 درجه سانتی گراد

روز	Control	M_{210}^{6}	M_{210}^{8}	M_{410}^{6}	M_{410}^{8}
تولید	-	-	-	-	-
روز 10	-	-	-	-	-
روز 20	-	-	-	-	-
روز 30	-	-	-	-	-
روز 40	-	-	-	-	-
روز 50	غیر قابل شمارش	$0/4 \times 10^2$	$0/6 \times 10^2$	-	$4/7 \times 10^2$
روز 60	غیر قابل شمارش	غیر قابل شمارش	$1/5 \times 10^2$	$0/3 \times 10^2$	غیر قابل شمارش
تولید	-	-	-	-	-
روز 10	-	-	-	-	-
روز 20	-	-	-	-	-
روز 30	-	-	-	-	-
روز 40	-	-	-	-	-
روز 50	-	-	-	-	-
روز 60	-	$0/1 \times 10^2$	-	-	کپک
تولید	-	-	-	-	-
روز 10	-	-	-	-	-
روز 20	-	-	-	-	-
روز 30	-	-	-	-	-
روز 40	-	-	-	-	-
روز 50	$0/1 \times 10^2$	-	-	-	-
روز 60	کپک	-	-	-	-
تولید	-	-	-	-	-
روز 10	-	-	-	-	-
روز 20	-	-	-	-	-
روز 30	-	-	-	-	-
روز 40	-	-	-	-	-
روز 50	-	-	-	-	-
روز 60	-	-	-	-	-

کپک و مخمر

کلیفرم

استافیلوکوکوس اورئوس

اشرشیاکلی

نتایج آزمون های میکروبی (پروفایل میکروبی) نمونه های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 4 درجه سانتی گراد به صورت میانگین دو تکرار - منفی و عدم رشد میکروارگانیسم

در جدول 6، نتایج کپک و مخمر، کلیفرم، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی در طی 14 روز نگهداری در دمای 37 درجه سانتی گراد گزارش شده است. تست کپک و مخمر نمونه شاهد در روز 7 نگهداری مثبت و غیرقابل قبول و نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{4106} بعد از 14 روز نگهداری از لحاظ ارزیابی میکروبی و کپک و مخمر منفی و قابل قبول بوده است. اشرشیاکلی در هر سه دمای نگهداری منفی بود. کاهش pH دوغ در طی زمان نگهداری، موجب مهار بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود. به دلیل pH پایین دوغ (کمتر از 4/5)، باکتری‌های بیماری‌زایی چون اشرشیاکلی در این فرآورده قدرت ادامه حیات به مدت طولانی را ندارند. مطالعات نشان می‌دهد که در نمونه‌های آزمایشی دوغ، تعداد باکتری اشرشیاکلی تلقیح شده با تعداد $7 \log \text{cfu/ml}$ ، پس از 2 هفته نگهداری در دمای یخچال، به $1 \log \text{cfu/ml}$ کاهش یافت. بقای اشرشیاکلی به دمای نگهداری نیز بستگی دارد. در دمای اتاق، بقای اشرشیاکلی در مقایسه با شرایط نگهداری در دمای یخچال، افزایش می‌یابد (مظاهری و همکاران، 1395).

همانطور که در شکل 3 و 4، مشخص است نمونه شاهد از لحاظ ارزیابی کپک و مخمر در روز 7 نگهداری مثبت بوده، اما نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{4106} ، ارزیابی کپک و مخمر و سایر باکتری‌های عامل فساد مذکور بعد 14 روز نگهداری، منفی می‌باشد



شکل 3- نمونه دوغ شاهد روز 7 نگهداری در دمای 37 درجه سانتی گراد

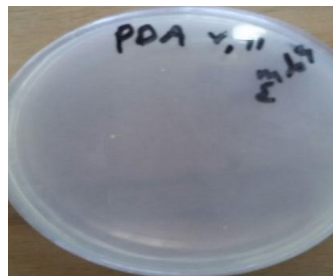


شکل 4- نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{4106} بعد 14 روز نگهداری در دمای 37 درجه سانتی گراد

همان‌طور که در شکل 1 و 2 مشخص می‌شود، نمونه دوغ تلقیح شده با سویه لاکتوباسیلوس برویس M_{4106} طی 60 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد از لحاظ شمارش کپک و مخمر قابل قبول بوده ($0/3 \times 10^2 \text{CFU/ml}$) که کمتر از حد استاندارد کپک و مخمر در استاندارد دوغ ایران یعنی 100Cfu/ml می‌باشد. این امر، نشان‌دهنده قدرت ضدمیکروبی سویه مذکور می‌باشد اما نمونه شاهد همان‌طور که در شکل 1، مشخص می‌باشد در روز 50 نگهداری از لحاظ ارزیابی کپک و مخمر مثبت بوده است.



شکل 1- نمونه شاهد بعد 50 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد



شکل 2- نمونه دوغ تلقیح شده با سویه لاکتوباسیلوس برویس M_{4106} بعد از 60 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

جدول 5، نتایج کپک و مخمر، کلیفرم، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی در طی 21 روز نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد را گزارش می‌کند. کپک و مخمر نمونه شاهد در روز 14 نگهداری غیرقابل شمارش است ولی نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{4106} بعد 21 روز نگهداری از لحاظ ارزیابی میکروبی و کپک و مخمر منفی بوده است. اکثر باکتری‌های اسید لاکتیک دارای فلاووپروتئین اکسیداز می‌باشد که در حضور اکسیژن، تولید پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌کنند. پراکسید هیدروژن در محیط تجمع می‌یابد زیرا باکتری‌های اسید لاکتیک توانایی تولید کاتالاز ندارد. اثر ضدمیکروبی پراکسید هیدروژن به اثر اکسیدکنندگی قوی روی سلول باکتری نسبت داده شده است و باعث تخریب ساختار مولکولی اصلی پروتئین‌های سلول باکتری می‌شود (Condon, 1987).

جدول 5- نتایج میکروبی نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 25 درجه سانتی گراد

روز	Control	M ₂ 10 ⁶	M ₂ 10 ⁸	M ₄ 10 ⁶	M ₄ 10 ⁸
تولید	-	-	-	-	-
روز 7	-	-	-	-	-
روز 14	غیر قابل شمارش	-	1/1×10 ³	-	-
روز 21	غیر قابل شمارش	1×10 ²	غیر قابل شمارش	-	8×10 ²
تولید	-	-	-	-	-
روز 7	-	-	-	-	-
روز 14	-	-	-	-	-
روز 21	1/5×10 ²	-	1×10 ²	-	-
تولید	-	-	-	-	-
روز 7	-	-	-	-	-
روز 14	-	-	-	-	-
روز 21	4×10 ²	-	-	-	-
تولید	-	-	-	-	-
روز 7	-	-	-	-	-
روز 14	-	-	-	-	-
روز 21	-	-	-	-	-

کپک و مخمر

کلیفرم

استافیلوکوکوس
اورئوس

اشریشیاکلی

نتایج میکروبی نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 25 درجه سانتیگراد بصورت میانگین دوتکرار
-: منفی و عدم رشد میکروارگانیسم

جدول 6- نتایج میکروبی نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 37 درجه سانتی گراد

روز	Control	M ₂ 10 ⁶	M ₂ 10 ⁸	M ₄ 10 ⁶	M ₄ 10 ⁸
تولید	-	-	-	-	-
روز 7	غیر قابل شمارش	-	1/2×10 ³	-	-
روز 14	غیر قابل شمارش	غیر قابل شمارش	غیر قابل شمارش	-	غیر قابل شمارش
تولید	-	-	-	-	-
روز 7	-	-	-	-	-
روز 14	-	-	-	-	-
تولید	-	-	-	-	-
روز 7	-	-	-	-	-
روز 14	4×10 ²	-	1/2×10 ³	-	-
تولید	-	-	-	-	-
روز 7	-	-	-	-	-
روز 14	-	-	-	-	-

کپک و مخمر

کلیفرم

استافیلوکوکوس
اورئوس

اشریشیاکلی

نتایج میکروبی نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 37 درجه سانتیگراد بصورت میانگین دو تکرار
-: منفی و عدم رشد میکروارگانیسم

ارزیابی حسی

نتایج آنالیز حسی، موید این حقیقت است که نمونه‌های دوغ تلقیح شده با سویه‌های لاکتوباسیلوس برویس، ویژگی‌های حسی بهتری داشتند و از لحاظ ارزیابی حسی نسبت به نمونه شاهد، امتیاز بیشتری را کسب کردند.

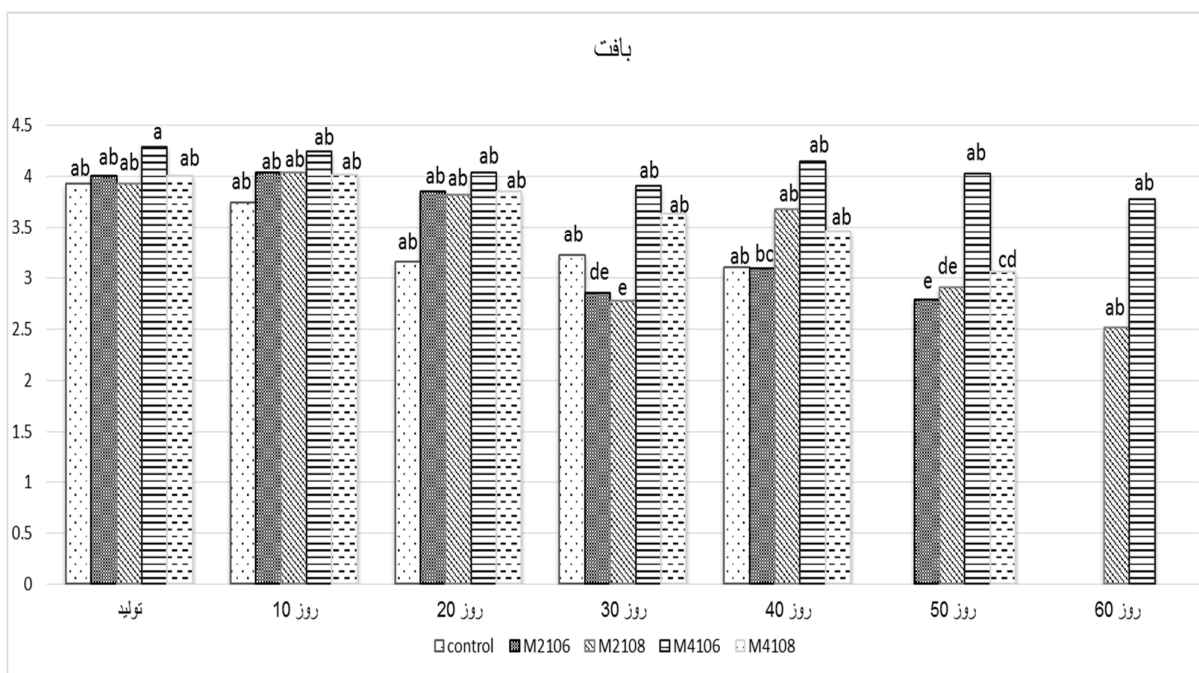
کسب امتیاز مطلوب، احتمالاً به دلیل تولید متابولیت‌هایی مانند

دی‌استیل، اسید استیک و دیگر اسیدهای آلی بوده که در آرومای محصولات لبنی تاثیر دارند. باکتری‌های اسید لاکتیک انواع مختلفی از ترکیبات ضد میکروبی از قبیل اسید لاکتیک و اسید استیک تولید می‌کنند که موجب کاهش pH در تخمیر شده و همچنین مولد ترکیباتی مانند پراکسید هیدروژن، اسید فرمیک، اسید پروپیونیک و دی‌استیل می‌باشند (Lindgren & Dobrogosz, 1990).

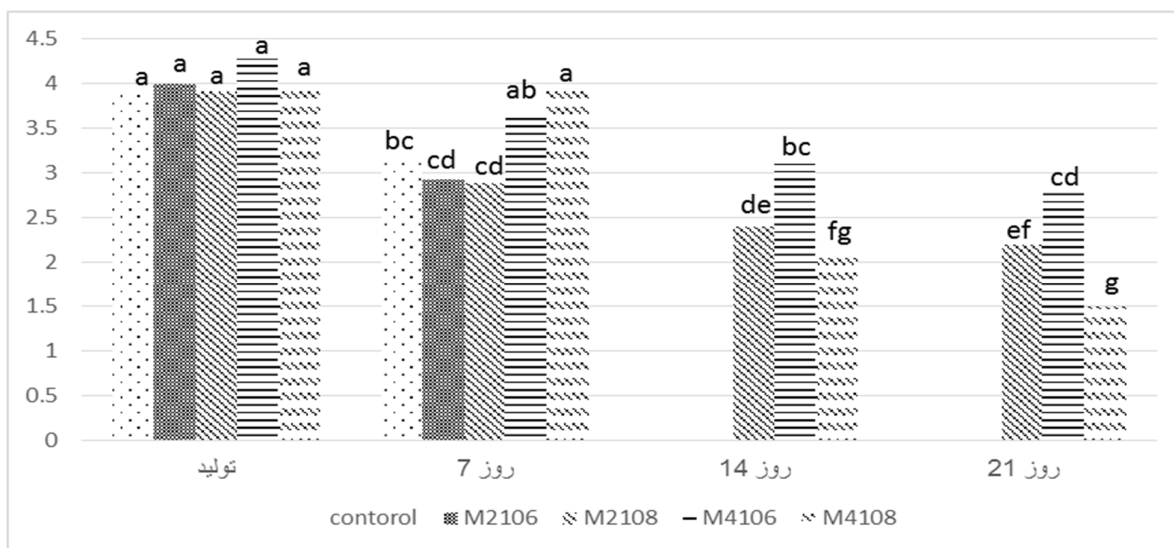
شاخص بافت

بیشترین امتیاز برای شاخص بافت، را نمونه دوغ تلقیح شده با سویه $M410^6$ در دماهای 4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد کسب نمود و کمترین امتیاز بافت مربوط به نمونه شاهد (شکل 5، 6 و 7) بوده، که احتمالاً این برتری به دلیل تولید متابولیت‌هایی توسط دو سویه لاکتوباسیلوس برویس M2 و M4 می‌باشد. امتیاز مربوط به بافت نمونه‌های دوغ در طی زمان نگهداری، در هر سه دما، روند کاهشی نشان داد که این روند در تحقیقی که توسط Joseph Yun و همکاران (1993)، روی پنیر تولیدی با مایه پنیر آنزیمی انجام شده بود، مشاهده شد. به نظر می‌رسد که عوامل موثر بر تغییرات بافت در مراحل اولیه نگهداری با انتهای نگهداری متفاوت است. رطوبت و pH از عوامل موثر بر تغییرات بافت طی مراحل اولیه نگهداری می‌باشد (Lawrence et al., 1987). بر اساس جداول 1، 2 و 3، تغییرات pH نمونه‌های دوغ در سه دمای نگهداری (4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد) در طی دوره نگهداری دوغ، روند کاهشی نشان

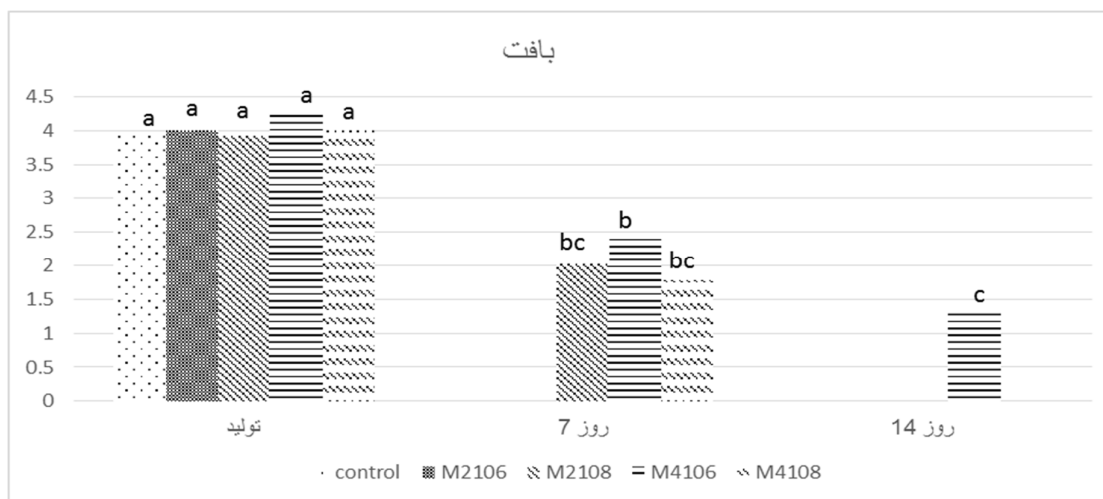
داده است که این روند کاهشی pH، می‌تواند دلیلی بر روند کاهشی امتیاز بافت نمونه‌های دوغ در طی دوره نگهداری باشد. Azizi و همکاران (2017) در تحقیق خود نشان دادند که دو سویه لاکتوباسیلوس برویس (M2 و M4) ترکیبات ضد میکروبی و شبه باکتریوسینی تولید کرده که بر روی ویژگی‌های حسی محصول می‌تواند تاثیرگذار باشد. باکتری‌های اسید لاکتیک با تولید اگزوپلی‌ساکارید و دیگر متابولیت‌ها، موجب افزایش قابل توجه ویسکوزیته و یک ساختار لزج و لعابی می‌شود که با افزایش درصد تلقیح باکتری میزان ویسکوزیته، افزایش یافته، به‌طوری که نمونه‌های تولید شده با سویه‌های لاکتوباسیلوس برویس بالاترین امتیاز بافت را دارا هستند. اگزوپلی‌ساکارید تولید شده در ضمن فرایند تخمیر توسط باکتری‌های اسید لاکتیک، موجب کاهش دوفاز شدن شده و تاثیر زیادی بر بافت فراورده‌های لبنی تخمیری دارد و موجب بهبود بافت محصول تخمیری می‌شود (مظاهری و همکاران، 1395).



شکل 5- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (بافت) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد.



شکل 6- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (بافت) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد

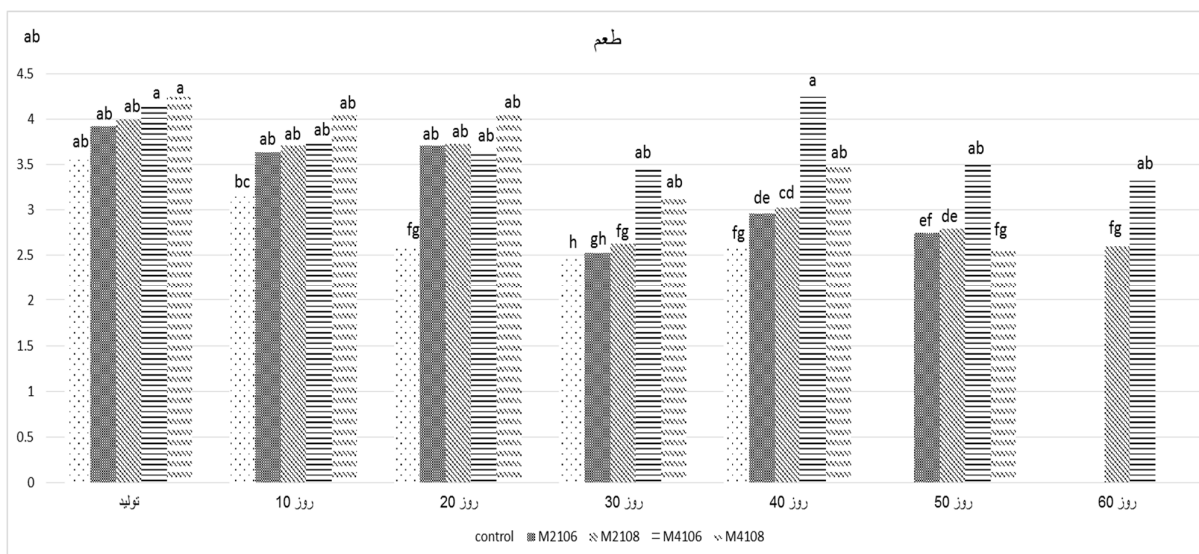


شکل 7- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (بافت) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد

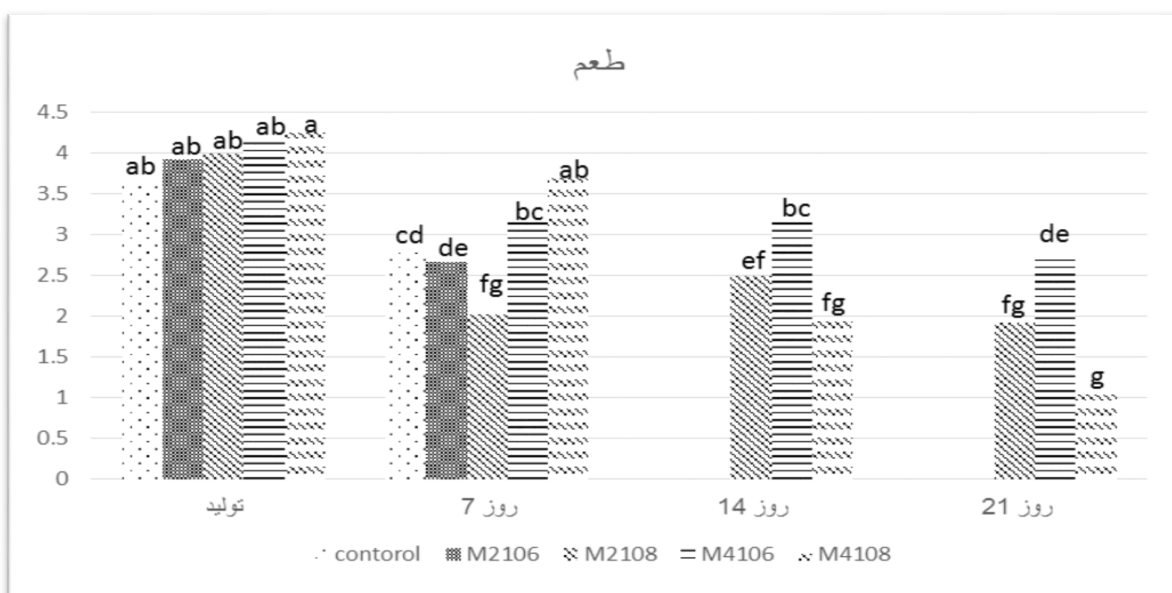
نمونه شاهد حاصل شد. در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در روز تولید بیشترین امتیاز برای نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{410}^8 و در روز 7 و 14 نگهداری نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{410}^6 بیشترین امتیاز را حاصل کرده و کمترین امتیاز مربوط به نمونه شاهد بوده است. دی استیل آرومای مشخصه ترکیبات کره دارای اثرات ضد میکروبی در pH پایین می‌باشد و به وسیله برخی از گونه‌های جنس‌های باکتری‌های اسید لاکتیک در طی تخمیر سیترات تولید می‌شود. اگرچه مقدار دی استیل مورد نیاز برای اعمال فعالیت ضد میکروبی نزدیک به 200 میلی‌متر می‌باشد اما به طرز چشمگیری باعث تغییر طعم و مزه محصول می‌شود (Earnshaw, 1992).

شاخص طعم

در ارزیابی طعم، بر اساس شکل‌های 8، 9 و 10 بیشترین امتیاز در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، تا 20 روز اول نگهداری مربوط به نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{410}^8 و از روز 20 تا 60 نگهداری، بیشترین امتیاز طعم مربوط به نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{410}^6 می‌باشد. در دمای 25 درجه سانتی‌گراد تا روز 7 نگهداری بیشترین امتیاز مربوط به نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{410}^8 ولی در روز 7 به بعد نگهداری نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{410}^6 مطلوب‌تر بوده است که احتمالاً به دلیل افزایش زیاد اسیدیته و کاهش pH، نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{410}^8 می‌باشد و کمترین امتیاز برای



شکل 8- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (طعم) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد



شکل 9- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (طعم) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد.

شاخص رنگ

در ارزیابی رنگ، بر اساس جدول‌های 11، 12 و 13 کسب بیشترین امتیاز برای شاخص رنگ در دمای 4 و 25 و 37 درجه سانتی‌گراد در روز تولید برای نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{2108} می‌باشد و از روز تولید به بعد بیشترین امتیاز برای نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{4106} و M_{4108} حاصل شد و کمترین امتیاز مربوط به نمونه شاهد می‌باشد. کسب امتیاز بهتر رنگ برای نمونه‌های دوغ

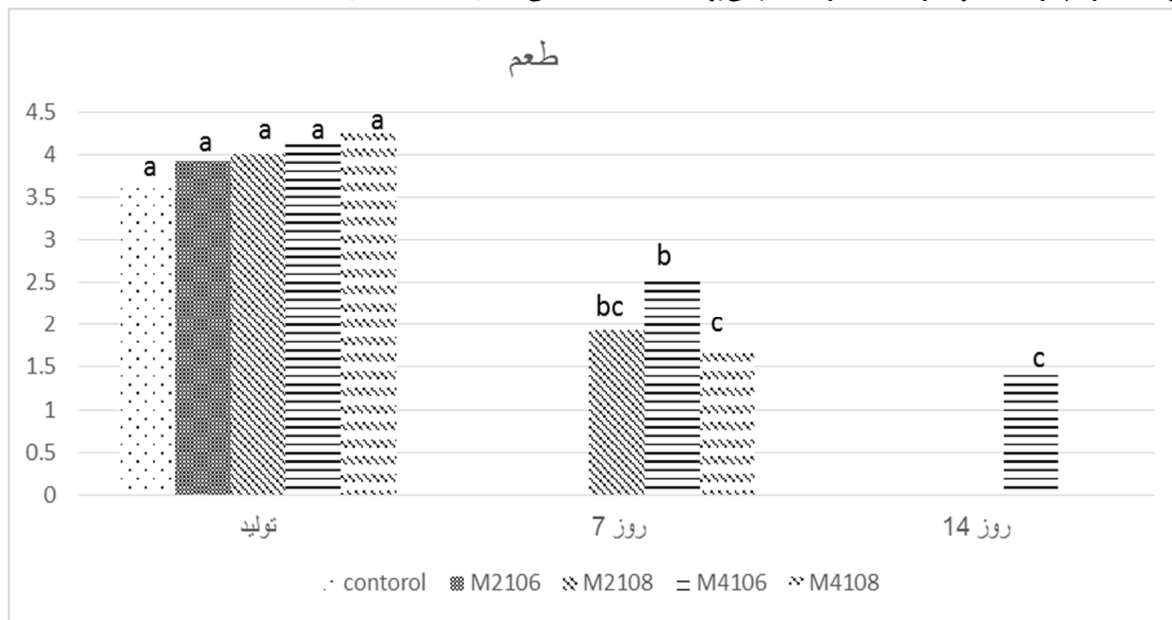
تلقیح شده با سویه‌های لاکتوباسیلوس، به احتمال زیاد مربوط به متابولیت‌های تولیدی آنها می‌باشد.

پذیرش کلی

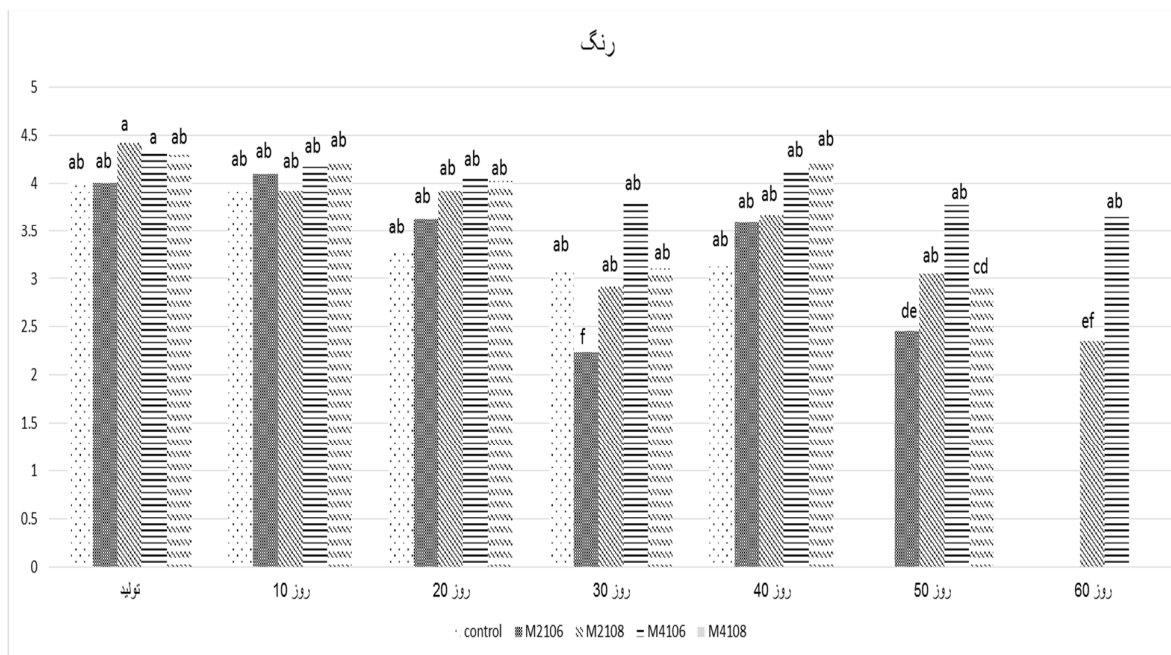
در ارزیابی پذیرش کلی، مطابق جدول‌های 14، 15 و 16 کسب بیشترین امتیاز برای پذیرش کلی در دماهای 4 و 25 و 37 روز تولید مربوط به نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M_{2108} و از روز تولید به

عمده کاربرد این لاکتوباسیلوس‌ها توانایی تخمیر لاکتوز و تولید اسید لاکتیک است. مطالعات انجام شده نشان‌دهنده فوائد متعدد تکنولوژیکی و توانایی ایجاد عطر و طعم در فراورده‌های لبنی می‌باشد (Marth, 2001).

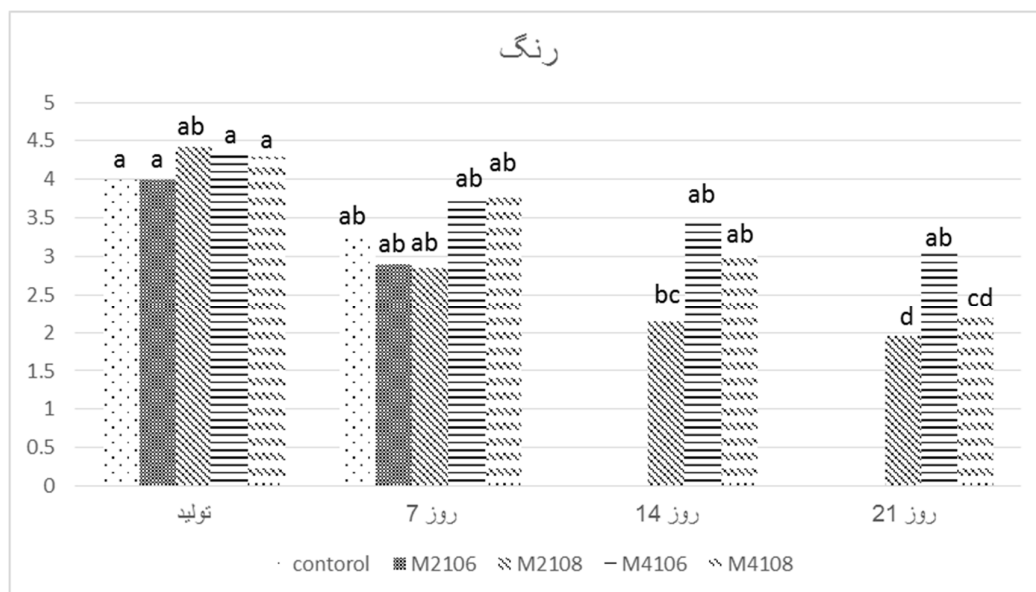
بعد بیشترین امتیاز پذیرش کلی مربوط به نمونه دوغ تلقیح شده با سویه M4106 می‌باشد. آغازگرهای لبنی عمدتاً کشت‌های تهیه شده باکتری‌های اسید لاکتیک است که در تولید انواع محصولات لبنی مانند کره، پنیر، ماست و شیرهای تخمیری به کار می‌رود. هدف



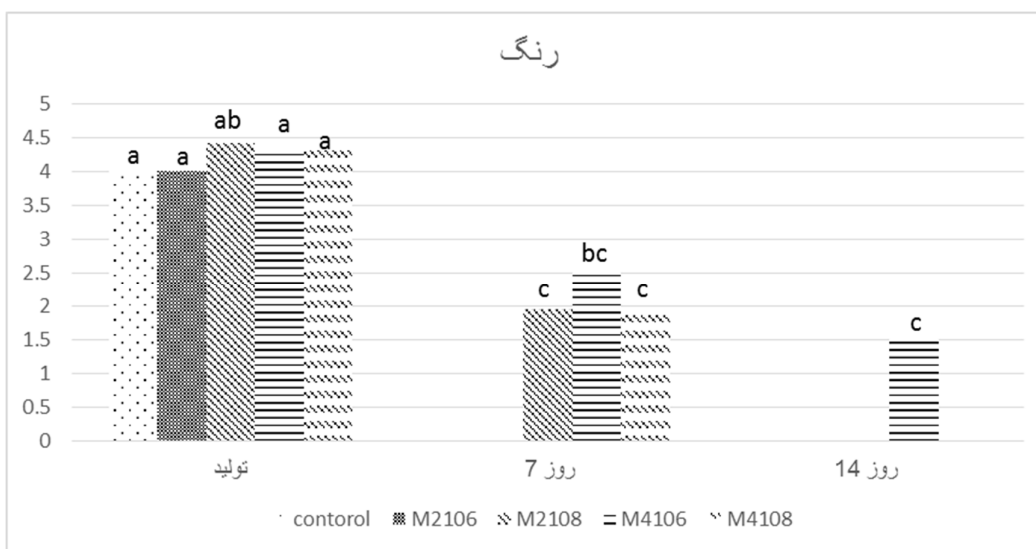
شکل 10- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (طعم) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد



شکل 11- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (رنگ) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد



شکل 12- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (رنگ) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد



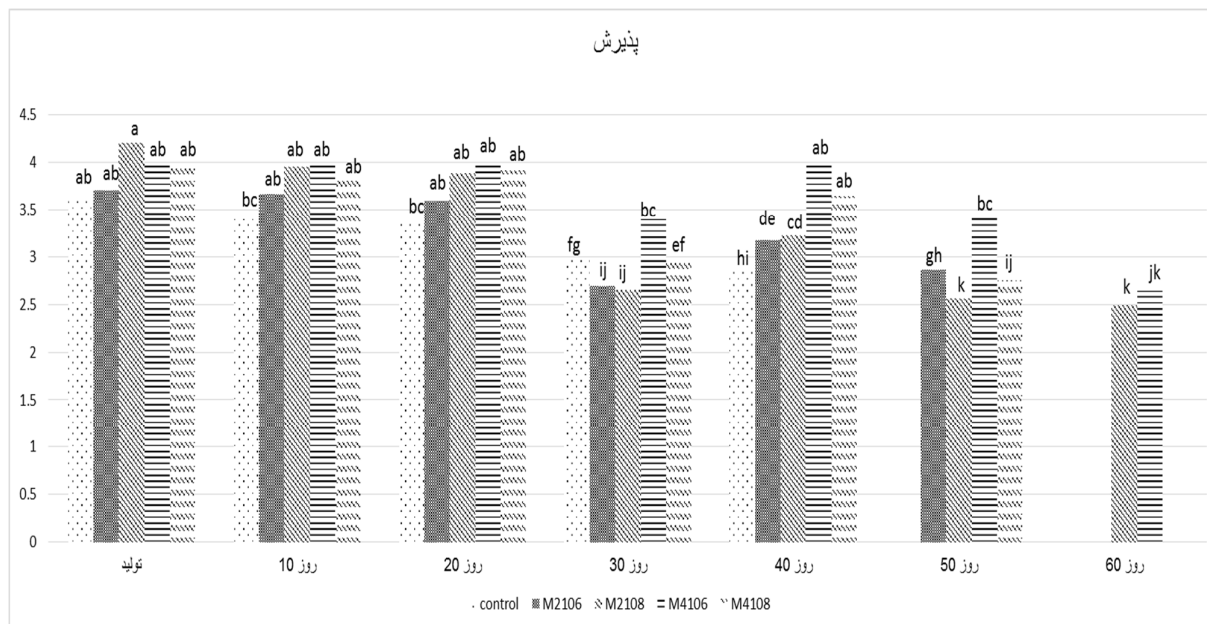
شکل 13- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (رنگ) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد

به منظور بررسی تولید گاز در دوغ یک نمونه تلقیح شده با سویه M4106 (تحقیقاتی) و یک نمونه دوغ صنعتی به عنوان نمونه شاهد در گرمخانه 37 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نتایج نشان داد نمونه شاهد در روز سوم نگهداری دچار بمباز و ترکیدن درب بطری شد اما نمونه دوغ تحقیقاتی در روز 7 نگهداری در گرمخانه، میزان کمی گاز تولید کرد که مربوط به هتروفرمنتاتیو بودن سویه مربوطه می‌باشد. همچنین یک نمونه دوغ تحقیقاتی با یک نمونه دوغ صنعتی به عنوان شاهد در دمای اتاق قرار داده شد که نتایج نشان دادند نمونه شاهد

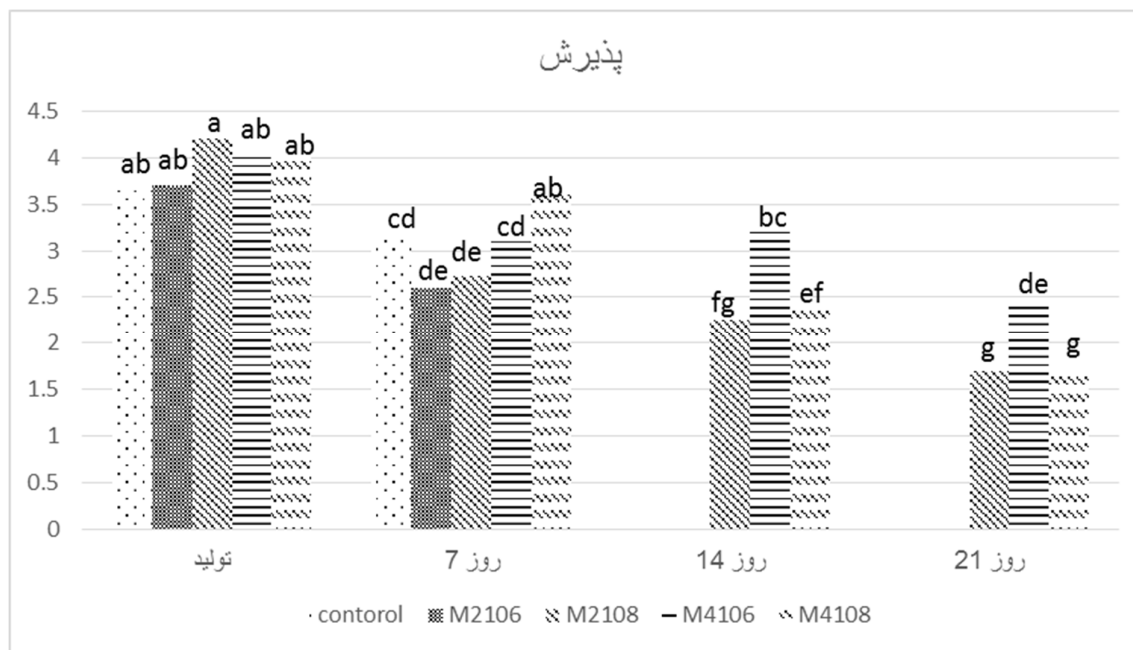
مانطور که نتایج نشان می‌دهند نمونه‌های دوغ تلقیح شده با سویه‌های لاکتوباسیلوس با قابلیت بیشترین زمان نگهداری و همچنین کسب امتیاز مطلوب، از لحاظ ارزیابی حسی برتری داشتند. همچنین نتایج آنالیز حسی (پذیرش کلی) (شکل 16) نشان داد که نمونه دوغ تلقیح شده با سویه لاکتوباسیلوس M4106 ایزوله شده از پنیر متال، تا روز 14 نگهداری، به دلیل خاصیت ضد میکروبی این سویه، تنها نمونه دوغ است که موجب بهبود شاخص حسی محصول و افزایش عمر انبار مانی محصول شده است.

شده با سویه مذکور هیچ تولید گازی نداشت و کاملاً سالم بود.

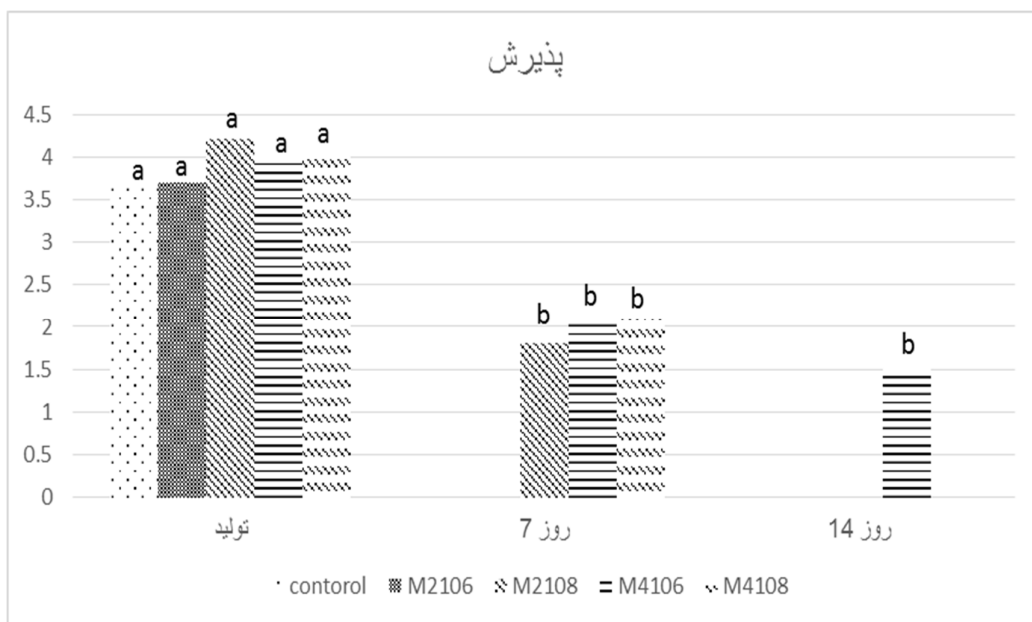
در روز 14 نگهداری مقدار زیادی گاز تولید کرده اما نمونه دوغ تولید



شکل 14- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (پذیرش کلی) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد



شکل 15- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (پذیرش کلی) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد



شکل 16- مقایسه میانگین نتایج آنالیز حسی (پذیرش کلی) نمونه‌های دوغ تولیدی طی دوره نگهداری در دمای 37 درجه سانتی گراد



شکل 17- نمونه شاهد روز سوم و نمونه دوغ تحقیقاتی روز هفتم نگهداری در دمای 37 درجه سانتی گراد

نتیجه‌گیری

انجام شد. نتایج موید این حقیقت بود که سویه لاکتوباسیلوس برویس M410⁶ دارای بیشترین قدرت ضد میکروبی و همچنین افزایش قابل توجه در زمان ماندگاری دوغ و کاهش تولید گاز در بطری گردید.

به‌طور خلاصه، به‌منظور ارزیابی فعالیت ضد میکروبی دو سویه باکتری‌های اسید لاکتیک ایزوله شده از پنیر سنتی ایران (متال) در دوغ به‌منظور جلوگیری از فعالیت مخمرهای مولد گاز، این پژوهش

منابع

- عزیزی، ف.، حبیبی نجفی، م. ب.، عدالتیان، م. ر.، 1395، شناسایی جدایه های باکتریهای جنس لاکتوباسیلوس از پنیر متال حاصل از شیر خام به روش های سنتی و مولکولی، علوم و صنایع غذایی، شماره 68، صفحات 92-83.
- علیزاده، ص. ا.، جمالی فرح، صمدی، ن.، عیدی، ا.، فاضلی، م. ر.، 1389، تأثیر نمک طعام بر رشد و ویژگی ضد میکروبی لاکتوباسیلوسهای جدا شده از خمیر ترش نانهای سنتی استان مرکزی، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال پنجم، شماره 3، صفحات 56-47.
- خمیری، م.، عیسی زاده رازلیقی، س.، نصرالله زاده، ا.، 1395، بررسی فعالیت ضد مخمری لاکتوباسیلوس برویس و انتروکوکوس فاسیوم جدا شده از چال (شیر تخمیری شتر) بر مخمرهای عامل فساد مواد غذایی در دوغ، مهندسی بیوسیستم ایران، دوره 47، شماره 4، زمستان (1395) ص 64
- مظاهری تهرانی، م.، قدس روحانی، م.، امین میری، م.، 1395، توسعه و تولید ماست و سایر فرآورده های لبنی فراسودمند، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد شماره 657 صفحات 172 و 176
- Ashurst, P.R., 2005, Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices 2nd ed. Blackwell Publishing, pp.57-62.
- Azizi, F., Habibi Najafi, M. B., Edalatian Dovom, M. R. 2017. The biodiversity of *Lactobacillus* spp. from Iranian raw milk Motal cheese and antibacterial evaluation based on bacteriocin-encoding genes. *AMB express*.7:176-186.
- Bonestroo, M. H., Dewit, J. C., Kusters, B. J. M., & Rombouts, F. M., 1993. Inhibition of the growth of yeasts in fermented salads. *International Journal of Food Microbiology*, 17, 311-320.
- Cangella, F., Ovidi, M., Paganini, S., Vettraino, A.M., Bevilacqua, L. and Trovatielli, L.D., 1998. Survival of undesirable micro-organisms in fruit yoghurts during storage at different temperatures. *Food Microbiol* 15, 71-77.
- Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N., 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28, 281-370.
- Clevend, j., Montviie, T.J., Nes, I.F. & Chikindas, M.L., 2001, Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71(1), 1-20.
- Condon, S., 1987. Responses of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiology Reviews*, 46, 269-280.
- Crowley, S., Mahony, J., & Van Sinderen, D., 2012, Comparative analysis of two antifungal *Lactobacillus plantarum* isolates and their application as bioprotectants in refrigerated foods. *Journal of Applied Microbiology*, 113, 1417-1427.
- Delavenne, E., Ismail, R., Pawtowski, A., Miunier, G., & Barbier, G., 2012, Assessment of lactobacilli strains as yogurt bioprotective cultures, *Food Control*, 30 (2013) 206-213
- Earnshaw, R. G., 1992. The antimicrobial action of lactic acid bacteria: *Natural food preservation systems*. In B. J. B. Wood (Ed.), *The lactic acid bacteria in health and disease* (pp. 211-232). New York: Elsevier.
- Edalatian, M.R., Habibi Najafi, M.B., Mortazavi, S.A., Alegria, A., Nassiri, M.R., Bassami, M.R., & Mayo, B., 2012, Microbial diversity of the traditional Iranian cheeses Lighvan and Koozeh, as revealed by polyphasic culturing and culture-independent approaches, *Dairy Science and Technology*, 92, 75-90.
- Eklund, T., 1989. Organic acids and esters. In G. W. Gould (Ed.), *Mechanisms of action of food preservation procedures* (pp. 161-200). New York: Elsevier.
- El-Mabrok, A. S. W., Hassan, Z., Mokhtar, A. M., & Hussin, K. M. A., 2013, Antifungal Activity of *Lactobacillus plantarum* LAB-C5 and LAB-G7 Isolated from Malaysian Fruits, *Acta Biologica Malaysiana*, 2(1): 22-30
- Gülmez, M., Güven, A., Sezer, Ç., Duman, B., 2003. Evaluation of microbiological and chemical quality of ayran samples marketed in Kars and Ankara cities in Turkey. *kafkas. Univ. Vet. Med. J.* 9, 49-52.
- Guo, J., Mauch, A., Galle, S., Murphy, P., Arendt, E. K., Coffey, A., 2011, Inhibition of growth of *Trichophyton tonsurans* by *Lactobacillus reuteri*, *Journal of Applied Microbiology*, 474-483.
- Karipatas, E., Tulumolu, S., & Erdem, B., 2010, *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, Antifungal Effects of *Lactobacillus* spp. *Bacteria on Candida Yeast*, 16 (6): 1061-1064
- Lawrence R, Creamer L, Gilles J. 1987. Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Scienc.* 70(8):1748-60.
- Lindgren, S. E., & Dobrogosz, W. J., 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiology Reviews*, 87, 149-164.
- Marth E.H. & Steel J. L., 2001. *Applied dairy microbiology*. Marcel Dekker, Inc, second edition. pages:327-343.
- Nayyeri, N., Edalatian, M.R., Habibi Najafi, M.B., & Bahreyni, M., 2017, Effect of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from different stages of production Lighvan cheese on *Rodotorula mucilaginosa* as a spoilage indicator in fruit juice, *Iranian Food Science and Technology Research Journal* pages: 596-608
- Ozkaya, F., Karabicak, N., Kayali, R., & Esen, B., 2005, Inhibition of yeast isolated from traditional Turkish Cheeses by *Lactobacillus* spp., *International Journal of Dairy Thechnology*, 58(2), 111-114.

- Papagianni, M., 2003, ribosomally synthesized peptides with antimicrobial properties: biosynthesis, structure, function, and applications. *Biotechnology Advances*, 21, 465-499.
- Pitt, J.J. and Hocking, A.D., 1999. *Fungi and Food Spoilage*, 2nd edn. Gaithersburg, MD: Aspen Publications.
- Rouse, S., Harnett, D., Vaughan, A., & Sinderen, D. van. 2008, Lactic acid bacteria with potential to eliminate fungal spoilage in foods. *Journal of Applied Microbiology* 104, 915-923.
- Stiles, M.E., 1996, Biopreservation by lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 331-345
- Strom, K., 2005. *Fungal Inhibitory Lactic Acid Bacteria*. PhD Thesis: Swedish University of Agricultural Sciences.
- Sweeney, M. and Dobson, A., 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Int J Food Microbiol* 43, 141-158.
- Tamang, J.P., Fleet, G.H., 2009. Yeasts diversity in fermented foods and beverages. In: Satyanarayana, T., Kunze, G. (Eds.), *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*. Springer, Dordrecht Netherlands, pp. 169-198.
- Tamime AY and Robinson RK, 2001. *Yoghurt: science and technology*. 2nd Ed. CRC Press, England. pp: 249-305, 535-587.
- Voulgari, K., Hatzikamari, M., Delepoglou, A., Georgakopoulos, P., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Tzanetakis, N., 2009, Antifungal activity of non-starter lactic acid bacteria isolates from dairy products, *Food Control*, 21 (2010) 136-142
- Wang, H., Shi, J., Zhang, H., & Qi, W., 2011, a survey of some antifungal properties of lactic acid bacteria isolates from koumiss in China, *International Journal of Dairy Technology*, and 64,585-590
- Woolford, M. K., 1984a. The antimicrobial spectra of organic compounds with respect to their potential as hay preservatives. *Grass and Forage Science*, 39, 75-79.
- Woolford, M. K., 1984b. The antimicrobial spectra of some salts of organic acids and glutaraldehyde in respect to their potential as silage additives. *Grass and Forage Science*, 39, 53-57
- Yang, E.J. , & Chan, H.C., 2010, Purification of a new antifungal compound produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi , *International Journal of Food Microbiology*, 139 , 56-63.



Evaluation of antimicrobial Activity of Two *Lactobacillus* Strains Isolated from Traditional Motal Cheese on shelf life of Yoghurt drink (Doogh)

S. Afzali¹, M. R. Edalatian Dovom^{2*}, M. B. Habibi Najafi³, M. Mazaheri Tehrani³

Received: 2018.01.31

Accepted: 2018.06.12

Introduction: Yoghurt drink or Doogh has gained great attention in recent years in different countries. On the other hand, this desirable commodity has showed some drawbacks especially from microbial point of view. One of the main problems in Doogh production and storage is considered to be the presence and activity of gas producing microorganisms especially in warm conditions and environments. From the consumer point of view, blowing of container is not acceptable and is regarded as a defect. Since lactic acid bacteria (LAB) possess the potential use as adjunct or co-culture in fermented dairy products for inhibition of gas – producing microorganisms' especially gas-producing yeasts in doogh, inclusion of these bacteria (LAB) can be a solution for this problem in aforementioned product. In this study, antimicrobial effects of two selected strains of *Lactobacillus brevis* assigned as M2 and M4 isolated from Motal cheese were investigated on the gas-producing and food spoilage microorganisms in Doogh.

Materials and methods: Two strains of lactobacillus namely M2 (*Lactobacillus brevis* KX572376) and M4 (*Lactobacillus brevis* KX572378) were selected from traditional Motal cheese isolates. Doogh production was carried out according to National Iranian Standard No. 2453. Each of these two strains was inoculated in Doogh at two levels of 10^6 and 10^8 cfu / ml and control sample was taken without inoculation followed by subjecting to microbial and sensory analysis at three temperatures of 4, 25 and 37°C, at intervals of 10, 7 and 7 days, respectively. Microbial profiles including coliforms, *E. coli*, Mold & yeast and *Staphylococcus aureus* were determined according to National Iranian Standard Number (2 and 1) –5486, 5234 and 5486, 997 and 6806, respectively. Sensory evaluation was carried out according to Iranian National Standard No. 4691. Sensory evaluation parameters such as taste, texture, color and total acceptance were evaluated by 10 senior food industry students.

Results and discussion: The results showed that sample inoculated with M4 10^6 strain, received the highest score for antimicrobial activity at all three storage temperatures. Results demonstrated that, at 4 ° C, the control sample was contaminated (spoiled) on 50th day and was positive for mold and yeast count, but sample inoculated with M4 10^6 was acceptable (negative) for mold and yeast count. At 25 C, mold growth was detected in control sample on the 14th day of storage, but the sample inoculated with M4 10^6 remained completely un-spoiled until the 21st day. At 37°C, the control sample on day 7 was positive for mold and yeast count, but the sample inoculated with M4 10^6 , mold and yeast was not detected until the 14th day. Coliform, *Staphylococcus* and *Escherichia coli* counts in M4 10^6 sample were negative. Sensory evaluation was carried out according to Iranian National Standard No. 4691. Sensory evaluation data showed that samples inoculated with M4 10^6 were superior to the control sample. Doogh samples inoculated with *Lactobacillus brevis* strains experienced acceptable sensory evaluation so that they gained better score than control sample. The highest score was obtained for the M4 10^6 sample. The texture of the Doogh samples showed a decreasing trend at all three temperatures during the storage period. Moisture and pH are factors influencing texture changes during the initial stages of storage. Based on the taste evaluation results, at 4°C, the highest score was related to M4 10^8 until day-20, but from the 20th to the 60th day of storage, the M4 10^6 has gained the highest one. At 25°C until day 7, the highest score belonged to sample M4 10^8 but from this day on, M4 10^6 has been more favorable. At 37°C on production day, highest score for the M4 10^8 sample but on day- 7 and 14, the M4 10^6 took the highest score. Regarding to color index, M2108 has gained the highest score at all 3 temperatures on the production day and for the rest of storage time, the highest scores were obtained for the M4108 and M4106 samples. Maximum total acceptance, was obtained for M2108 on the

1. MSc. Student of Food Microbiology, Food Science and Technology Department, Agriculture faculty, Ferdowsi University of Mashhad (FUM).

2. Associate Professor, Food Science and Technology Department, Agriculture faculty, Ferdowsi University of Mashhad (FUM).

3. Professor, Food Science and Technology Department, Agriculture faculty, Ferdowsi University of Mashhad (FUM).

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

production day but this was replaced by M4106 for the rest of the time .The results showed that the Lactobacillus strain M4106 strain had the highest antimicrobial activity and the optimum score for sensory evaluation, as well as a significant increase in Doogh shelf life and reduced gas production in the bottle.

Key words: Motal cheese, *Lactobacillus brevis*, Antimicrobial activity



تأثیر فرایند اکستروژن و شرایط انجماد بر کیفیت خمیر منجمد و کوکی تهیه شده از آرد سورگوم

نسیم حسن پور¹- محبت محبی^{2*}- آرش کوچکی²- الناز میلانی³

تاریخ دریافت: 1396/11/23

تاریخ پذیرش: 1397/04/16

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر روش‌های انجماد (کند و سریع) و مدت زمان نگهداری خمیر منجمد در شرایط انجماد بر کیفیت کوکی حاوی آرد سورگوم اکستروژن شده و اکستروژن نشده به منظور تولید یک محصول فاقد گلوتن و مناسب برای بیماران سلیاکی بود. نتایج نشان دادند که سرعت انجماد بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی کوکی حاصل از خمیر منجمد مؤثر بوده، با افزایش سرعت انجماد میزان سفتی بافت و چسبندگی خمیر به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کاهش یافت اما پیوستگی خمیر افزایش یافت. دمای ژلاتیناسیون افزایش و آنتالپی کل کاهش یافت، سرعت گسترش پذیری کوکی افزایش یافت، کوکی‌های حاصل بافت نرم‌تری داشتند ولی روشنایی کمتری نسبت نمونه‌های منجمد شده در شرایط انجماد کند داشتند. تخلخل بافت کوکی حاصل از خمیر منجمد افزایش یافت شد و قطر پوسته کوکی نیز افزایش پیدا کرد. با افزایش سرعت انجماد امتیاز، ویژگی‌های حسی نیز بهبود یافتند. با افزایش دوره نگهداری خمیر منجمد نسبت گسترش پذیری کوکی، تخلخل بافت و قطر پوسته کاهش پیدا کرد اما میزان سفتی بافت کوکی افزایش پیدا کرد. پارامتر L^* و ضریب نفوذ مؤثر کوکی به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کاهش یافت. در مجموع نتایج نشان دادند که فرایند اکستروژن کردن آرد سورگوم سبب بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی کوکی شده است و فرایند انجماد سریع باعث بهبود کیفیت کوکی حاصل از خمیر منجمد شده است و می‌توان از آرد سورگوم اکستروژن شده به عنوان جایگزین مناسب گندم برای تولید کوکی استفاده کرد. همچنین استفاده از خمیر منجمد برای تولید کوکی می‌تواند روش مناسبی برای عرضه این محصول باشد.

واژه‌های کلیدی: آرد سورگوم، اکستروژن، انجماد، کنتیک انتقال جرم، کوکی

مقدمه

علاقه بازار به سمت محصولات نانوائی منجمد شده است که دارای مزیت اقتصادی در تولید و توزیع و مطابق با استانداردهای کیفیت است که عبارت‌اند از نیاز کمتر به زمان و کارگر، عدم نیاز به کارگر متخصص، تسهیل متمرکزسازی تولید فراورده، سهولت کنترل و استانداردسازی تهیه و تولید فراورده، امکان تولید محصول در هر زمان، امکان اصلاح کیفیت آرد در مراکز تولید خمیر، کاهش هزینه‌های کارگری و تجهیزات، امکان انتقال راحت‌تر خمیر منجمد به مکان‌های دورتر مانند رستوران‌های محلی و مراکز خرده‌فروشی (Giannou et al., 2007; Koushki et al., 2011).

عمر نگهداری خمیر منجمد در صورتی که نقل و انتقال و انبارش آن در این شرایط به‌طور مناسب انجام گیرد، 8 تا 9 ماه برآورد می‌شود (Meziani et al., 2012). انجماد و نگهداری به حالت منجمد بر قابلیت زنده ماندن و توانایی تولید گاز توسط مخمر نان تأثیر به‌سزایی دارد؛ به‌طوری‌که کریستالیزه شدن یخ در ساختار خمیر منجمد، تمایل کریستال‌های کوچک یخ در تبدیل به کریستال‌های بزرگ‌تر جهت

محصولات تازه نانوائی دارای عمر مفید کوتاهی هستند. در طول انبارداری تغییرات فیزیکی و شیمیایی در این محصولات رخ می‌دهد که منجر به فرآیندی شناخته شده به نام بیاتی می‌شود. از دست دادن تازگی و در مقابل ایجاد سفتی در مغز محصولات نانوائی و کاهش عطر و طعم باعث عدم پذیرش مصرف‌کننده می‌شود. از دست دادن رطوبت و ایجاد ناشاسته واپس‌گرا شده دلیل سفتی مغز محصولات نانوائی است. در زمینه روش‌های کاربردی از جمله انجماد خمیر و تأثیر آن بر کیفیت محصول نهایی بسیار تحقیق شده است. اکنون

1 و 2- به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
3- استادیار، گروه پژوهشی فرآوری مواد غذایی، جهاددانشگاهی مشهد، مشهد، ایران.

(*) نویسنده مسئول: m-mohebbi@um.ac.ir (Email)
DOI: 10.22067/food.v14i5.70942

کاهش سطح خود (کریستالیزه شدن مجدد) به خصوص ضمن نوسانات دمایی، موجب مرگ و میر سلول‌های مخمر و کاهش تولید گاز دی‌اکسیدکربن و آسیب به شبکه گلوتن می‌شود (Meziani et al., 2009; Nakamura et al., 2012).

کیفیت محصولات به‌دست آمده از خمیرهای منجمد به فرمول خمیر و شرایط تولید محصول (زمان مخلوط کردن، شرایط انجماد و ذوب، شرایط نگهداری و سرعت تخمیر) بستگی دارد. این فاکتورها گاه به‌صورت مستقل و گاه به‌صورت هم‌زمان باعث کاهش تولید دی‌اکسید کربن توسط مخمر و یا تخریب شبکه گلوتنی می‌شوند. برای غلبه بر این مشکل‌ها، از بهبوددهنده‌های مختلف در فرمول اولیه خمیر استفاده می‌شود (Herbert, 2006; Caray & Bemiller, 2003). از جمله این افزودنی‌ها می‌توان به اموسیفایرها، ترکیبات اکسیدکننده و هیدروکلوئیدها اشاره کرد.

هیدروکلوئیدها آنتالپی ذوب را کاهش می‌دهند. این امر به دلیل کاهش میزان آب قابل انجماد در اثر باند شدن آب آزاد توسط هیدروکلوئیدها می‌باشد، در نتیجه تشکیل بلور یخ کاهش پیدا می‌کند و در پی آن آسیب‌های ناشی از انجماد کمتر خواهد بود (Ribotta et al., 2008; Mandala, 2005; Kim et al., 2008; Matuda et al., 2008). همچنین در محصولات فاقد گلوتن به‌عنوان اجزاء پلیمری عمل کرده، در آب متورم شده، ساختاری معادل شبکه گلوتن در خمیر گندم، ایجاد می‌کنند و در نتیجه ویژگی‌های ویسکوالاستیک گلوتن در خمیر نان گندم را ایجاد می‌کنند (Gambus et al., 2007). بیماری سلیاک، نوعی بیماری گوارشی است که به پرزهای روده کوچک آسیب می‌رساند و سبب اختلال در جذب مواد مغذی می‌شود. افرادی که به بیماری سلیاک مبتلا هستند پروتئین‌هایی مانند گلیادین گندم، سکاالین چاودار، هورددین جو و آونین یولاف را نمی‌توانند مصرف کنند (Gallagher et al., 2004). زمانی که بیماران مبتلا به سلیاک، غذاهای حاوی گلوتن مصرف می‌کنند، سیستم ایمنی بدن آن‌ها پاسخی را به‌صورت تخریب روده کوچک صادر می‌کند (Fasano & Catassi, 2001). از اینرو امروزه با توجه به این که تنها راه درمان این بیماری استفاده از یک رژیم غذایی بدون گلوتن است، مطالعات پیرامون تولید مواد غذایی بدون گلوتن به‌ویژه محصولات صنایع پخت که قوت غالب افراد جامعه را تشکیل می‌دهد از اهمیت زیادی برخوردار است. یکی از غلاتی که قابلیت استفاده در رژیم غذایی این افراد را دارد سورگوم می‌باشد.

سورگوم یکی از غلات مهم است و طبق آمار گزارش شده از 44 میلیون هکتار زمین در سال 2004 حدود 6 میلیون تن دانه سورگوم برداشت شده است (FAO, 2004). اغلب در مناطق نیمه‌خشک رشد می‌کند و به‌عنوان یک محصول مهم در آفریقا (نیجریه، سودان، بورکینافاسو و اتیوپی)، آسیا (هند، چین و ایران) و قسمت‌های خشک مرکزی و جنوب آمریکا (Dendy, 1995) محسوب می‌شود. در

مناطق جنوب خراسان، سیستان و بلوچستان، کرمان، اصفهان، یزد، گیلان، مازندران و بنادر جنوبی به‌طور پراکنده وجود دارد. برآورد که شده است حدود 40 درصد از سورگوم تولیدشده در جهان، مصرف خوراکی برای انسان دارد (Rooney & Waniska, 2000). دانه سورگوم به لحاظ ارزش تغذیه‌ای معادل ارزن، ذرت، گندم و برنج و از لحاظ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مشابه گندم است (Awika et al., 2004). از سوی دیگر می‌توان خصوصیات غلات از جمله سورگوم را با استفاده از روش‌های فیزیکی و حرارتی اصلاح کرد از جمله این روش‌ها فرآیند اکستروژن می‌باشد که یک فرایند حرارتی است که شامل استفاده از حرارت و فشار بالا و نیروهای برشی به توده مواد خام مانند غلات است (Riha et al., 1996). از جمله مزایای اکستروژن کردن هزینه پایین، زمان کوتاه، بهره‌وری بالا و صرفه‌جویی در مصرف انرژی است (Faraj et al., 2004). فرآیند اکستروژن کردن سبب تولید محصولی با خصوصیات بافتی و تغذیه‌ای بهتر می‌شود. فرآیند اکستروژن در محصولات فاقد گلوتن سبب بهبود سطح پروتئین، فیبر و تولید نشاسته مقاوم در این نوع محصولات از طریق کنترل شرایط اکستروژن مانند درجه حرارت، سرعت خوراک‌دهی و دور ماریپیج می‌شود (Paykary et al., 2012). Ilo و همکاران (2000) عنوان کردند که طی فرآیند اکستروژن در رطوبت‌های پایین گرانول‌های نشاسته در هم گسیخته و ذوب شدند و در رطوبت‌های بالا گرانول‌های نشاسته متورم و ژلاتینه شد و از طرف دیگر فرآیند اکستروژن منجر به کاهش کریستالیتی نشاسته شد. Martínez و همکاران (2014) تأثیر فرآیند اکستروژن بر خصوصیات آرد گندم را مورد پژوهش قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که کمپلکس آمیلوز - لیپید می‌تواند بر قابلیت هضم نشاسته اثر گذارد. در فرآیند اکستروژن به دلیل ژلاتینه شده نشاسته، شکستن گرانول‌های آن و باز شدن ساختار گرانول‌ها دسترسی آنزیم‌های هیدرولیتیک آسان‌تر شده و در نتیجه قابلیت هضم آن افزایش یافت.

با توجه به مطالعات انجام شده هدف از این تحقیق بررسی تأثیر سرعت انجماد (کند و سریع) و زمان نگهداری خمیر منجمد به مدت 8 هفته بر برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی کوکی حاصل از خمیر منجمد تهیه شده از آرد سورگوم اکستروژن شده و اکستروژن نشده با افزودن صمغ زانتان به منظور تولید کوکی فاقد گلوتن بود.

مواد و روش‌ها

سورگوم سفید از بازار محلی در زابل با رطوبت 10/34 درصد، صمغ زانتان از شرکت سیگما (آمریکا)، شورتینگ (مارگارین مهگل، شرکت بهینه ذرین، تهران) دکستروز از شرکت Cargill - WJ (آلمان - اتریش) بی کربنات سدیم از شرکت کیمیا تهران و سایر مواد مانند شکر و نمک از بازار محلی مشهد خریداری شدند.

خمیر اضافی جدا و در نهایت وزن کوکی‌ها ثبت شد (Guptaa et al., 2011)

عملیات انجماد

دو نوع انجماد کند و انجماد سریع به منظور منجمد کردن خمیر مورد استفاده قرار گرفت. انجماد کند بر اساس روش ارائه شده توسط X.u و همکاران (2009) و Ke و همکاران (2013) انجام شد برای این منظور خمیر کوکی‌های برش داده شده به قطر 6 سانتی‌متر و ضخامت 0/7 سانتی‌متر بر روی یک سینی پوشیده شده با فویل آلومینیوم قرار گرفتند و سپس با فویل آلومینیوم پوشیده شدند و در یک فریزر معمولی با دمای 20- درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت منجمد شدند. در روش انجماد سریع از اتاق‌های انجماد سریع با دمای 40- درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه استفاده شد (غیور و همکاران، 1387).

نگهداری خمیر طی انجماد

پس از فرایند انجماد، نمونه‌ها در داخل کیسه‌های پلی‌اتیلنی قرار داده شدند و به مدت صفر، 2، 4، 6 و 8 هفته در سردخانه با دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (X.u et al., 2009).

خروج از انجماد و پخت نمونه‌ها

برای فرایند خروج از انجماد، قطعه‌های خمیر در یخچال با دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 16 ساعت قرار داده شدند (مزایانی و همکاران، 2012). بعد از هر چرخه یک نمونه برداشته شد و در دستگاه ماکروویو (الجی، SD-WCR3853) با دمای 180 درجه سانتی‌گراد به مدت 14 دقیقه عمل پخت صورت گرفت. سپس در دمای اتاق سرد و برای آنالیز مورد استفاده قرار گرفتند.

اندازه‌گیری خصوصیات بافتی خمیر و کوکی

مقدار سفتی و چسبندگی و پیوستگی خمیر کوکی به وسیله دستگاه سنجش بافت (TA.XTplus, UK) اندازه‌گیری شد. آزمون TPA با استفاده از پروب استوانه‌ای به قطر 6 میلی‌متر انجام شد. میزان نفوذ پروب به داخل بافت نمونه 2 میلی‌متر بود. این عمل در 3 تکرار در دمای 20 درجه سانتی‌گراد با میزان بارگذاری 5 کیلوگرم، سرعت قبل آزمون 1 میلی‌متر در ثانیه، سرعت آزمون 2 میلی‌متر در ثانیه و سرعت بعد از آزمون 10 میلی‌متر در ثانیه انجام شد و پارامترهای پیوستگی، چسبندگی و سفتی بافت خمیر اندازه‌گیری شد (Walker et al., 2012).

اندازه‌گیری دمای ژلاتیناسیون و انتالپی کل خمیر کوکی حاصل از خمیر منجمد

به منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های حرارتی از دستگاه DSC (DSC

تهیه آرد سوگوم

سورگوم سفید، مورد استفاده در این مطالعه، از بازار محلی در زابل خریداری شد. دانه‌های سورگوم ابتدا به صورت دستی از لحاظ شکل، اندازه، شکسته و نابالغ بودن دانه، گرد و غبار، شن و ماسه، سنگ و دیگر مواد خارجی تمیز شدند. حدود 10 کیلوگرم سورگوم ابتدا با آب شسته شده، در آون (Memmert, 154 Beschickung-loading, Model 100-800) با دمای 38 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 58/27 درصد به مدت دو روز خشک شد. در مرحله بعد با استفاده از آسیاب سایشی آزمایشگاهی و مش 0/599 میلی‌متر عمل آرد کردن صورت گرفت و در نهایت آرد سورگوم به دست آمده که حاوی 9 درصد رطوبت، 10/5 درصد پروتئین، 3/25 درصد چربی و 1/64 درصد خاکستر بود در کیسه‌های پلی‌اتیلن بسته‌بندی و در یخچال نگهداری شدند. به منظور فرایند اکستروژن کردن از دستگاه اکستروژر (دو ماریچ با چرخش هم‌جهت مدل DS56، Saxin Jinan، چین) با دمای 150±5 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 14 درصد، سرعت 150 دور در دقیقه، خوراک‌دهی 40 گرم در دقیقه و ماتریس دایره‌ای به قطر 5 میلی‌متر استفاده شد و در مرحله آخر با استفاده از آسیاب سایشی و مش 0/599 میلی‌متر عمل آرد کردن صورت گرفت و در نهایت آرد سورگوم به دست آمده در کیسه‌های پلی‌اتیلن بسته‌بندی و در یخچال نگهداری شدند (Jafari et al., 2017).

آماده‌سازی خمیر کوکی

ترکیبات تشکیل‌دهنده خمیر کوکی شامل شکر (27/51 درصد)، شورتنینگ (مارگارین) (13/54 درصد)، محلول دکستروز (6/98 درصد، 9/8 گرم دکستروز در 150 میلی‌لیتر آب مقطر)، بی‌کربنات سدیم (0/53 درصد)، نمک (0/44 درصد)، آب به میزان لازم (بر اساس جذب آب فارینوگراف) بود (Guptaa et al., 2011). در این پژوهش آرد سورگوم به صورت اکستروژن شده و غیراکستروژن به صورت 100 درصد جایگزین آرد گندم شد. همچنین از صمغ زانتان به نسبت 1/0 درصد وزنی/ وزنی استفاده شد. کلیه مواد تشکیل‌دهنده فرمولاسیون به دقت وزن شدند و به کمک دستگاه مخلوط‌کن (مایسون، MFP-740S، چین) در دمای اتاق به خوبی مخلوط شدند. ابتدا شورتنینگ (مارگارین)، نمک و سدیم کربنات با سرعت پایین به مدت 3 دقیقه مخلوط و سپس محلول دکستروز و آب مقطر به مخلوط اضافه شد و به مدت 1 دقیقه با سرعت پایین و 1 دقیقه با سرعت متوسط مخلوط شدند و در نهایت آرد به صورت کامل به مخلوط اضافه شد و به مدت 2 دقیقه با سرعت پایین مخلوط شدند. بعد از عمل مخلوط شدن، شش قسمت خمیر (35 گرم) بر روی سینی تفلون چرب شده قرار گرفته، به کمک وردنه تا ضخامت 0/7 سانتی‌متر نازک شدند و در آخر به کمک قالب دایره‌ای شکل به قطر 6 سانتی‌متر خمیر برش خورد و

Germany_204 F1 Phoenix) استفاده شد. برای این منظور حدود 12 میلی گرم نمونه ابتدا تا دمای 7 درجه سانتی گراد سرد شد و سپس تا دمای 157 درجه سانتی گراد با سرعت حرارت دهی 10 درجه سانتی گراد در دقیقه حرارت دید (Ribotta et al., 2004). با استفاده از ترموگرام های به دست آمده دمای گذار شیشه ای و آنتالپی ژلاتیناسیون اندازه گیری شد.

اندازه گیری نسبت گسترش پذیری

نسبت گسترش کوکی با استفاده روش AACC 10-52 (AACC, 2000) اندازه گیری شد. برای این منظور 6 عدد کوکی لبه به لبه در کنار هم قرار گرفتند و قطر کل آن ها اندازه گیری شد، سپس کوکی ها 90 درجه چرخانده شدند و مجدد قطر کوکی ها اندازه گیری شد و مقدار میانگین دو اندازه گیری محاسبه شد. اندازه گیری اول میانگین قطر و اندازه گیری دوم میانگین ضخامت کوکی ها است. نسبت این دو نشان دهنده نسبت گسترش پذیری است (Jia et al., 2011).

اندازه گیری سفتی بافت کوکی

به منظور اندازه گیری سفتی بافت بعد از پخت از دستگاه سنجش بافت استفاده شد. برای این منظور از پروب استوانه ای به قطر 5 میلی متر استفاده شد. سرعت قبل آزمون 1 میلی متر در ثانیه، سرعت آزمون 0/5 میلی متر در ثانیه و عمق نفوذ 5 میلی متر و میزان بارگذاری 50 کیلوگرم بود (Bassinello et al., 2011).

اندازه گیری رنگ

رنگ و پارامترهای بافت تصویر با استفاده از پردازش تصویر اندازه گیری شد. روش کار شامل تنظیم سیستم نورپردازی و استفاده از دوربین با وضوح (Canon EOS 1000D, Taiwan) تصاویر بالا و نرم افزارهای فتوشاپ (Adobe, v.8.0) و ایمج جی (ImageJ) نسخه 1.43r برای به دست آوردن پارامترهای رنگ بود (Naji-Tabasi & Mohebbi, 2014).

اندازه گیری تخلخل و قطر پوسته کوکی

برای ارزیابی میزان تخلخل مغز کوکی از تکنیک پردازش تصویر استفاده شد. بدین منظور برشی به ابعاد 2 در 2 سانتی متر از مغز کوکی تهیه گردید و به وسیله دوربین با وضوح تصاویر بالا، تصویربرداری انجام شد. سپس تصویر تهیه شده در اختیار نرم افزار Image J نسخه 1/43r قرار گرفت. اساس استفاده از تصاویر دیجیتال در اندازه گیری تخلخل بر این پایه استوار شده است که تصاویر رنگی وارد فضای 8 بیتی شده، سپس به روش آستانه گیری، حفرات بافت مورد نظر

شناسایی می شوند و آنگاه نسبت مساحت حفرات به مساحت کل بیانگر تخلخل خواهد بود (قیطران پور، 1392). جهت اندازه گیری ضخامت پوسته کوکی، ابتدا برش هایی از مقطع عرضی کوکی تهیه و تصاویر دیجیتال از آن ها گرفته شد. به منظور تبدیل واحد پیکسل به میلی متر قبل از تهیه عکس ها، یک قطعه با ابعاد مشخص در کنار نمونه قرار گرفت. سپس عکس ها وارد نرم افزار Image J شدند و ابتدا طول قطعه هایی که ابعاد مشخص داشت در واحد پیکسل اندازه گیری و نسبت تبدیل آن به میلی متر به دست آمد بعد از این مرحله، ضخامت پوسته نمونه های مختلف اندازه گیری شد (قیطران پور، 1392).

ارزیابی حسی

برای انجام ارزیابی حسی از 20 نفر داور استفاده می شود و ارزیابی حسی به روش هدونیک 5 نقطه انجام می شود. ویژگی های حسی مورد ارزیابی شامل رنگ، تردی، تخلخل، آروما و طعم و پذیرش کلی کوکی ها بود (Ronda et al., 2005).

بررسی و اندازه گیری کینتیک افت رطوبت در حین پخت

به منظور بررسی کینتیک افت رطوبت، ابتدا میزان رطوبت خمیر تازه و خمیر منجمد کوکی (با انجماد تند و کند) قبل از قرار گرفتن در درون فر مورد اندازه گیری قرار گرفت. سپس عمل پخت خمیر درون دستگاه ماکروویو (الجی، SD-WCR3853) با دمای 180 درجه سانتی گراد به مدت 14 دقیقه صورت گرفت و میزان کاهش رطوبت هر 2 دقیقه مورد اندازه گیری قرار گرفت.

اندازه گیری ضریب نفوذ رطوبت

برای تشریح فرایند پخت نان حاصل از خمیر تازه و منجمد و بررسی ضریب نفوذ رطوبت از قانون دوم فیک استفاده شد. برای آنالیز ریاضی، خمیر به عنوان یک تیغه نامتناهی در نظر گرفته شد. اثرات شیب حرارتی بر روی ضریب نفوذ حرارتی نادیده گرفته شد. همچنین فرض شد که انتقال رطوبت تنها از یک بعد صورت می گیرد. در این شرایط انتقال رطوبت در داخل را می توان توسط قانون دوم فیک توصیف کرد.

$$\frac{dx}{dt} = D \cdot \frac{d^2X}{dz^2} \quad (1)$$

که X برابر میزان رطوبت (کیلوگرم آب به کیلوگرم ماده خشک)، D برابر با ضریب نفوذ رطوبت $t, (m^2/s)$ در این معادله زمان به ثانیه و z فاصله انتشار یا ضخامت برای نفوذ رطوبت می باشد. فرایند نفوذ را می توان با استفاده از قانون فیک به صورت ریاضی توصیف کرد. روش های تحلیلی برای حل معادله قانون دوم فیک در بسیاری از منابع ارائه شده که توسط (کرانک، 1975) با در نظر گرفتن هندسه ماده غذایی و شرایط مرزی بیان گردیده است (ساکین و همکاران، 2007).

$$D_{\text{eff}} = \frac{4KL^2}{\pi^2} \quad (4)$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از آزمون فاکتوریل طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 5% انجام شد. هم‌چنین آنالیز داده‌ها با سه تکرار و با استفاده از نرم‌افزار Spss 18 انجام شد.

نتایج و بحث

خواص بافتی خمیر کوکی طی دوره نگهداری و شرایط مختلف انجماد

تأثیر دوره نگهداری بر خواص بافتی خمیر منجمد کوکی در شرایط مختلف انجماد در جدول 1 نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش زمان نگهداری خمیر منجمد کوکی میزان سفتی بافت و چسبندگی خمیر به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) افزایش یافتند اما پیوستگی خمیر کاهش یافت. علت افزایش سفتی نمونه‌ها طی 8 هفته نگهداری کاهش الاستیسته خمیر منجمد، به دلیل آسیب به بافت خمیر و گرانول‌های نشاسته توسط کریستال‌های یخ می‌باشد زیرا طی دوره نگهداری کریستال‌های یخ رشد می‌کنند و بزرگ‌تر می‌شوند (Havet et al., 2000).

$$M_r = \frac{M - M_e}{M_0 - M_e} = \frac{8}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[(-2n + 1)^2 \frac{\pi^2 D_{\text{eff}} t}{4L^2} \right] \quad (2)$$

که M میزان رطوبت بر پایه ماده خشک در هر زمان، M_0 و M_e نشان‌دهنده میزان رطوبت تعادلی و رطوبت اولیه بر پایه ماده خشک، D ضریب نفوذ مؤثر رطوبت یا نفوذپذیری رطوبت و L برابر با ضخامت نمونه می‌باشد.

رطوبت تعادلی، رطوبتی است که فرایند کاهش وزن در دمای مورد مطالعه متوقف شده باشد. این معادله را می‌توان با بسیار کوچک در نظر گرفتن M_e خلاصه کرد (ساکین و همکاران، 2007):

$$MR = \frac{M}{M_0} = \frac{8}{\pi} \exp \left(-\frac{\pi^2 D_{\text{eff}} t}{4L^2} \right) = \frac{8}{\pi} \exp(-kt) \quad (3)$$

K ثابت سرعت انتشار رطوبت و L ضخامت تیغه می‌باشد که چون حجم خمیر طی پخت تغییر می‌کند، L میانگین ارتفاع خمیر در نظر گرفته می‌شود (ساکین و همکاران، 2007).

در ابتدا با استفاده از داده‌های تجربی، نسبت رطوبت (MR) برای همه نمونه‌ها در هر 2 دقیقه محاسبه گردید. به‌منظور محاسبه ضریب نفوذ مؤثر، ابتدا نمودار $-\ln(MR)$ در برابر زمان رسم شد و مقدار ثابت سرعت افت رطوبت یا همان K از شیب نمودار به‌دست آمد و با استفاده از رابطه ضریب نفوذ مؤثر محاسبه گردید.

جدول 1- تأثیر دوره نگهداری و شرایط انجماد بر خواص بافتی خمیر

نوع انجماد	تیمار	مدت زمان نگهداری طی انجماد (روز)	چسبندگی خمیر (N.m)	پیوستگی خمیر (N.m)	سفتی خمیر (N/m)
انجماد کند	سورگوم	0	-1.92E-05±9.35E-07e	4.27E-05±7.32E-07e	772.719±16.725e
		14	-1.73E-05±9.31E-07f	4.01E-05±9.26E-07f	789.372±5.763d
		28	-1.60E-05±9.23E-07g	3.64E-05±8.36E-07h	821.262±7.548c
		42	-1.47E-05±9.83E-07h	3.27E-05±9.37E-07i	847.272±6.935b
		56	-1.41E-05±8.32E-07h	3.13E-05±9.36E-07j	879.262±9.541a
سورگوم اکستروژن شده	سورگوم	0	-2.31E-05±9.21E-07b	4.74E-05±7.65E-07b	712.534±11.348g
		14	-2.18E-05±9.21E-07c	4.48E-05±6.39E-07d	732.982±14.482f
		28	-2.06E-05±9.28E-07d	4.13E-05±7.21E-07e	762.816±12.628e
		42	-1.81E-05±9.38E-07f	3.85E-05±9.37E-07g	801.134±8.395d
		56	-1.73E-05±8.13E-07f	3.51E-05±9.37E-07h	823.918±15.936c
انجماد سریع	سورگوم	0	-2.08E-05±9.11E-07d	4.43E-05±8.32E-07d	713.833±5.375g
		14	-1.82E-05±9.83E-07f	4.21E-05±9.76E-07e	742.859±14.625f
		28	-1.63E-05±9.53E-07g	4.03E-05±6.48E-07f	798.847±14.271d
		42	-1.46E-05±9.53E-07h	3.86E-05±8.42E-07g	826.948±11.826c
		56	-1.31E-05±8.92E-07i	3.54E-05±9.17E-07h	845.958±8.931b
سورگوم اکستروژن شده	سورگوم	0	-2.42E-05±9.93E-07a	4.91E-05±8.32E-07a	673.834±8.418i
		14	-2.28E-05±8.19E-07b	4.76E-05±6.93E-07b	694.738±10.648h
		28	-2.16E-05±9.19E-07c	4.53E-05±6.93E-07c	712.947±12.735g
		42	-1.97E-05±9.35E-07e	4.13E-05±7.21E-07e	742.948±14.642f
		56	-1.75E-05±9.38E-07f	4.02E-05±8.37E-07f	794.276±10.248d

حروف آماری مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است

Meziani و همکاران (2012) نیز عنوان کردند که مدت زمان

نگهداری در شرایط انجماد، بر سفتی، ارتجاعیت و چسبندگی نان

شیرین تأثیر منفی داشت. با افزایش سرعت انجماد میزان سفتی بافت و چسبندگی خمیر به طور معنی داری ($P \leq 0.05$) کاهش یافت اما پیوستگی خمیر افزایش یافت. در انجماد سریع به دلیل تشکیل کریستال های ریز یخ و کریستال های یکنواخت تر آسیب کمتری به بافت خمیر و گرانول های نشاسته وارد می کند و در نتیجه ویژگی های بافتی خمیر صدمه کمتری پیدا کردند. نمونه های حاوی آرد سورگوم اکستروود شده سفتی بافت و چسبندگی کمتر و پیوستگی بیشتری نسبت به سایر نمونه ها داشتند و نمونه های حاوی آرد سورگوم غیر اکستروود دارای بیشترین مقدار سفتی و چسبندگی و کمترین میزان پیوستگی بود

دمای ژلاتیناسیون و آنتالپی کل خمیر کوکی طی دوره نگهداری و شرایط مختلف انجماد

تأثیر دوره نگهداری و شرایط مختلف انجماد بر دمای ژلاتیناسیون و آنتالپی کل خمیر منجمد کوکی در جدول 2 مشاهده می شود. با افزایش زمان نگهداری خمیر منجمد کوکی دمای ژلاتیناسیون کاهش یافت و آنتالپی کل به طور معنی داری ($P \leq 0.05$) افزایش یافت. نتایج نشان می دهد که نمونه کوکی منجمد شده تحت شرایط انجماد سریع به طور معنی داری ($P \leq 0.05$) دمای ژلاتیناسیون بالاتر و آنتالپی کل پایین تری داشتند.

جدول 2- تأثیر دوره نگهداری و شرایط انجماد بر دمای ژلاتیناسیون و آنتالپی کل خمیر منجمد کوکی

نوع انجماد	تیمار	مدت زمان نگهداری طی انجماد (روز)	دمای ژلاتیناسیون ($^{\circ}\text{C}$)	آنتالپی (J/g)
انجماد کند	سورگوم	0	73/2±1/24d	521/69±16/48d
		14	69/3±1/54de	547/39±16/38c
		28	65/5±1/43e	582/71±15/37b
		42	62/8±1/07e	621/75±6/87ab
		56	58/4±1/48ef	630/29±15/85a
سورگوم اکستروود شده	سورگوم اکستروود شده	0	102/2±0/87ab	382/21±14/29fg
		14	96/3±0/79b	410/72±12/83f
		28	90/4±1/23bc	437/97±14/86ef
		42	88/1±0/94c	489/43±28/29e
		56	85/4±0/48c	513/76±24/29de
سورگوم	سورگوم	0	76/5±1/21d	502/34±21/43e
		14	71/8±1/03d	521/86±22/31d
		28	68/4±1/13de	562/12±12/45bc
		42	65/2±1/35e	593/26±15/36b
		56	60/1±0/58e	613/27±16/44ab
انجماد سریع	سورگوم اکستروود شده	0	106/3±0/87a	352/67±33/24gh
		14	101/4±0/91ab	379/35±31/23g
		28	96/3±0/54b	410/32±13/23f
		42	90/2±0/86bc	452/38±21/56ef
		56	87/5±1/22c	462/18±32/1e

حروف آماری مختلف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف است

حضور مقدار بیشتر رطوبت در اثر فرآیند اکستروود کردن و افزودن صمغ زانتان سبب کاهش پیوستن زنجیره های آمیلوز و رسوب آن ها و در نهایت منجر به واپس گرایی می شود به عبارتی علاوه بر نگهداری رطوبت و کاهش سفتی باعث کاهش واپس گرایی نیز می شود و در مجموع از بیاتی می کاهد (Gray & Bemiller, 2003). در مقابل کوکی های حاوی 100 درصد آرد سورگوم اکستروود نشده دمای ژلاتیناسیون پایین تر و آنتالپی کل بالاتری داشتند. به علت عدم حضور شبکه گلوتن آسیب بیشتری در نتیجه تشکیل کریستال های یخ

طی فرآیند انجماد سریع کریستال های یخ کوچک تر و یکنواخت تری ایجاد می شود و در نتیجه آسیب به بافت خمیر و گرانول های نشاسته کمتر اتفاق می افتد و میزان آب قابل اتصال خمیر بعد از انجمادزدایی افزایش می یابد (X.u et al., 2009) و همین امر سبب کاهش واپس گرایی نشاسته می شود.

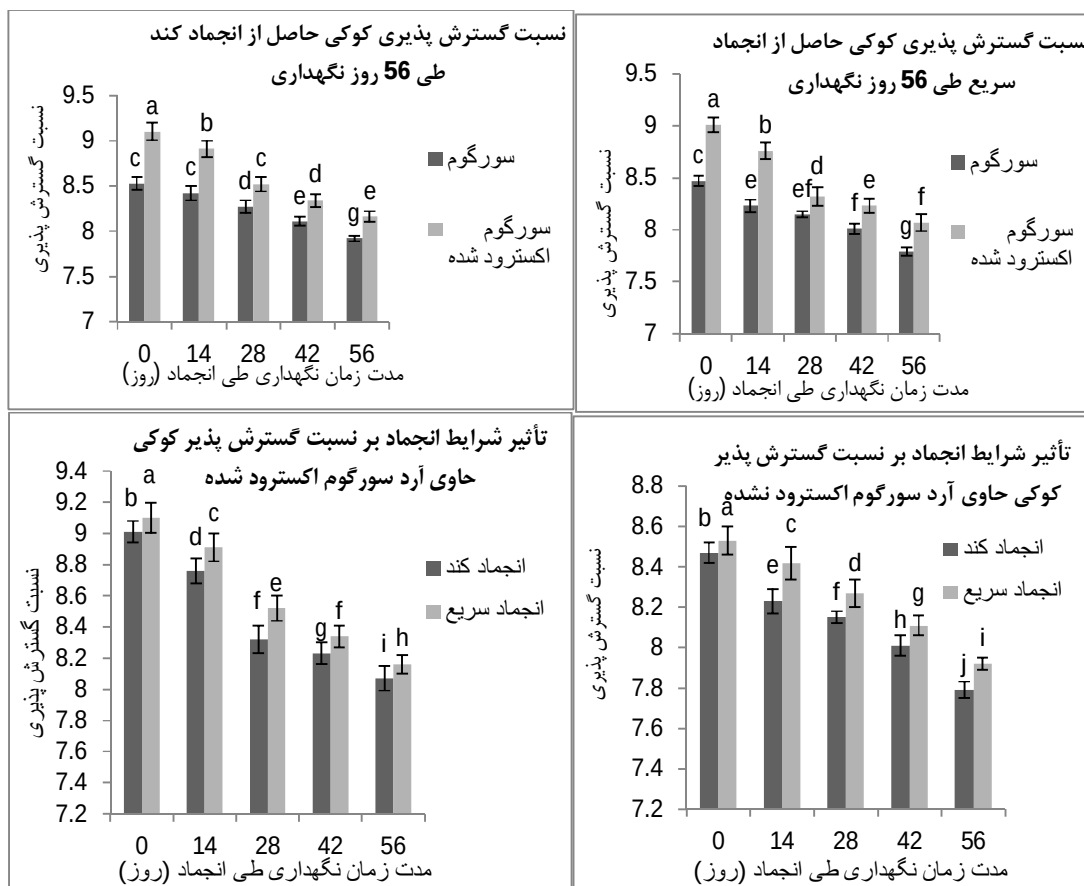
طی دوره نگهداری خمیر منجمد کوکی به مدت 8 هفته نمونه های حاوی آرد سورگوم اکستروود شده دمای ژلاتیناسیون بالاتر و آنتالپی کل پایین تری داشت. در واقع در این نوع تیمار به علت

کریستال‌های یخ و بزرگ‌تر شدن اندازه کریستال‌های یخ بافت خمیر و گرانول‌های نشاسته آسیب می‌بینند و بعد از انجماد زدایی آب آزاد بیشتری از نمونه خارج می‌شود و میزان آب قابل اتصال کاهش می‌یابد و در نتیجه بعد از پخت رطوبت کمتری از کوکی‌ها به حالت بخار خارج می‌شود و تخلخل و نسبت گسترش‌پذیری کاهش می‌یابد. سرعت انجماد نیز تأثیر معنی‌داری بر این ویژگی داشت به‌طوری که با افزایش سرعت انجماد سرعت گسترش‌پذیری افزایش یافت. در واقع انجماد سریع از طریق ایجاد کریستال‌های یخ کوچک‌تر و یکنواخت‌تر آسیب کمتری با ساختار بافت خمیر و گرانول‌های نشاسته وارد می‌کند.

و تبلور مجدد آن‌ها طی فرایند انجماد و دوره نگهداری در شرایط انجماد می‌بیند و همین امر سبب می‌شود تا این نوع خمیر آنتالیی کل بالاتر یا به عبارتی واپس‌گرایی بیشتری داشته باشد، البته صمغ زانتان از طریق افزایش آب قابل اتصال این ویژگی را بهبود بخشید (Ktina *et al.*, 2006).

نسبت گسترش‌پذیری کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره نگهداری

شکل 1 تأثیر دوره نگهداری را نسبت گسترش‌پذیری کوکی حاصل از خمیر منجمد را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش دوره نگهداری نسبت گسترش‌پذیر کوکی به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کاهش یافت. طی دوره نگهداری به دلیل رشد



نمونه‌های حاوی آرد سورگوم اکستروژنه شده پایین‌ترین میزان نسبت گسترش‌پذیری را دارا بود. فرایند اکستروژن از طریق افزایش اندیس جذب آب خمیر سبب بهبود نسبت گسترش‌پذیری کوکی حاصل از

همان‌طور که در شکل 1 مشاهده می‌شود کوکی‌های حاصل از آرد سورگوم اکستروژنه شده طی دوره نگهداری 8 هفته‌ای نسبت گسترش‌پذیری بالاتری ($P \leq 0.05$) نسبت سایر نمونه‌ها داشت و

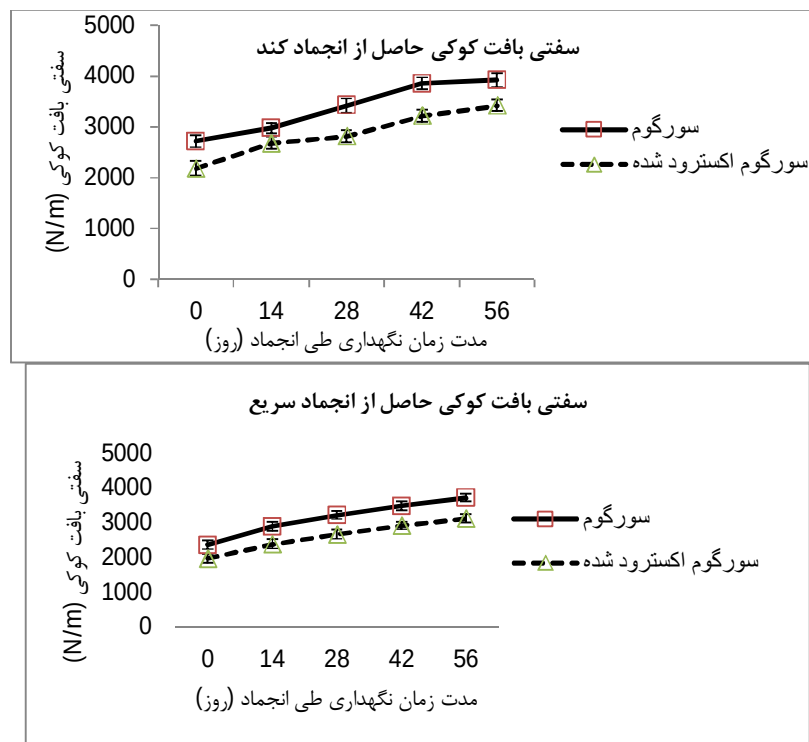
صمغ‌های عربی و کربوکسی‌متیل سلولز به‌منظور افزایش ماندگاری خمیر منجمد نان استفاده شدند. نسب گسترش‌پذیری نان حجیم به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر صمغ‌های بود و افزودن این صمغ‌ها سبب بهبود حجم مخصوص نان شد. نگهداری خمیر منجمد تأثیر منفی بر حجم قرص نان داشت اما افزودن 3 درصد صمغ عربی تأثیر مطلوبی بر حجم قرص نان و رطوبت خمیر منجمد نان داشت. Kim و همکاران (2008) تأثیر تری‌هالوز، ترانس‌گلوتامیناز و صمغ لوبیایی لوکاست در خمیر منجمد را مطالعه کردند. افزودن صمغ لوبیایی لوکاست، بر میزان سفتی نان تهیه شده از خمیر منجمد تأثیر منفی داشت و تأثیر زیادی بر نسبت گسترش‌پذیری نان تهیه شده از خمیر منجمد نداشت. در مقابل ترانس‌گلوتامیناز به‌طور قابل توجهی سبب بهبود نسبت گسترش‌پذیری و سفتی نان حاصل از خمیر منجمد شد.

سفتی بافت کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره نگهداری و شرایط مختلف انجماد

شکل 2 سفتی بافت کوکی را طی 8 هفته نگهداری در شرایط انجماد و سرعت‌های مختلف انجماد را نشان می‌دهد.

خمیر منجمد می‌شود و آرد سورگوم اکستروود نشده به دلیل رطوبت پایین و عدم حضور گلوتن نسبت گسترش‌پذیری پایین‌تری دارد. همچنین حضور صمغ زانتان از نظر بهبود ویژگی حفظ رطوبت، کنترل تحرک آب و جلوگیری از رشد کریستال‌های یخ بر نسبت گسترش‌پذیری کوکی مؤثر بود (Kerr و Yi، 2008) سرعت انجماد، زمان و دمای نگهداری خمیر منجمد و ویژگی‌های پخت آن را مطالعه کردند. نتایج نشان داد که خمیر نگهداری شده در دماهای 35- و 30- درجه سانتی‌گراد حداقل آسیب را به شبکه گلوتن وارد کردند. نسبت گسترش‌پذیری قرص نان با افزایش زمان نگهداری کاهش یافت و خمیر نگهداری شده در دمای 20- درجه سانتی‌گراد بیشترین نسبت گسترش‌پذیری قرص نان را داشت. بافت نان نگهداری شده در دماهای 35- و 30- درجه سانتی‌گراد در طول دوره نگهداری تغییرات کمتری داشت.

Asghar و همکاران (2007) تأثیر صمغ‌ها بر پایداری و ماندگاری خمیر منجمد نان را مورد بررسی قرار دادند. خمیر نان حاوی صمغ‌ها در سطح‌های گوناگون در فریزر با دمای 18- درجه سانتی‌گراد منجمد شده، سپس به مدت 60 روز در شرایط انجماد نگهداری شدند.



شکل 2- سفتی بافت کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره نگهداری در شرایط مختلف انجماد.

تیرک‌های ترسیم شده روی نقاط، نشان‌دهنده انحراف استاندارد داده‌های اندازه‌گیری شده است. حروف آماری مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است. همان‌طور که دیده می‌شود با افزایش زمان نگهداری سفتی بافت کوکی به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) افزایش یافت. علت این

همان‌طور که در شکل 2 مشاهده می‌شود در طی 8 هفته نگهداری خمیر منجمد، کوکی‌های حاوی آرد سورگوم اکستروژن شده سفتی بافت کمتری داشتند و کوکی‌های حاوی سورگوم اکستروژن نشده بیشترین میزان سفتی بافت را دارا بودند؛ و علت امر مربوط به فرایند اکستروژن است که سبب افزایش جذب آب خمیر شده و از این طریق میزان آب قابل اتصال افزایش یافت و در نتیجه کوکی حاصل بافت نرم‌تری داشت. در نمونه‌های حاوی آرد سورگوم اکستروژن نشده نیز به دلیل محتوای رطوبت پایینی که دارد، اضافه کردن صمغ زانتان سبب افزایش جذب آب خمیر شد و باعث کاهش آسیب‌های ناشی از انجماد شد.

رنگ کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره نگهداری و شرایط مختلف انجماد

ویژگی‌های مربوط به رنگ کوکی حاصل از خمیر منجمد کوکی طی 8 هفته و شرایط مختلف انجماد در جدول 3 مشاهده می‌شود.

امر رشد کریستال‌های یخ و تبلور مجدد کریستال‌های یخ طی دوره نگهداری است که سبب آسیب به بافت خمیر می‌شود (Havet et al., 2000) و بعد از مرحله انجمادزدایی آب آزاد خارج شده از خمیر افزایش و آب قابل اتصال کاهش می‌یابد که همین امر سبب می‌شود بعد از مرحله پخت خروج آب به صورت بخار کمتر صورت گیرد و در نتیجه تخلخل و نرمی بافت کاهش یافت. محققان یکی از عوامل مؤثر بر نرمی بافت محصولات نانویی را وجود رطوبت بالا در این محصولات می‌دانند و وجود ارتباط معکوس بین سفتی و محتوای رطوبت مغز نان را تأیید نمودند (Shittu et al., 2008). کوکی‌های حاصل از انجماد سریع بافت نرم‌تری داشتند؛ زیرا فرایند انجماد سریع سبب تکمیل کریستال‌های ریز یخ شده و آسیب به بافت خمیر را کاهش می‌دهد و باعث کاهش خروج آب به حالت آزاد از خمیر بعد از مرحله انجمادزدایی می‌شود. Jinhee و William (2009) و همکاران اثر ترکیبی انجماد و شرایط نگهداری بر خصوصیات کیفی نان حاصل از خمیر منجمد را بررسی کرده، شاهد افزایش سفتی در تمامی نمونه‌ها بودند.

جدول 3- تأثیر دوره نگهداری و شرایط مختلف انجماد بر پارامترهای رنگی کوکی حاصل از خمیر منجمد

نوع انجماد	تیمار	مدت زمان نگهداری طی انجماد (روز)	L*	a*	b*
انجماد کند	سورگوم	0	84/896±1/038a	-4/281±0/628b	20/172±0/897a
		14	79/479±1/436ab	-4/012±0/429c	19/186±0/875b
		28	72/864±0/328b	-3/927±1/021d	18/614±0/679c
		42	68/358±0/927bc	-3/419±0/826e	17/017±0/569d
		56	59/864±0/832c	-3/012±0/729f	16/279±0/974e
سورگوم اکستروژن شده	سورگوم اکستروژن شده	0	72/754±1/632b	-3/183±0/962f	16/826±0/649e
		14	67/533±0/821bc	-2/736±0/812g	16/212±0/396f
		28	60/643±0/927c	-1/837±0/723h	15/624±1/453g
		42	54/539±0/917cd	-1/183±0/672i	14/187±0/836h
		56	49/97±0/628d	-0/966±0/689j	13/361±0/973i
انجماد سریع	سورگوم	0	78/927±0/758ab	-5/875±0/829a	19/764±1/128b
		14	62/986±0/628c	-4/874±0/738ab	18/759±0/826c
		28	62/986±0/678c	-3/563±0/692e	17/439±0/619d
		42	54/975±1/562cd	-3/109±0/819f	16/248±0/582e
		56	48/863±1/036d	-2/954±0/382g	15/356±0/729g
سورگوم اکستروژن شده	سورگوم اکستروژن شده	0	65/937±1/034bc	-3/986±0/937d	15/753±1/265g
		14	62/937±0/931c	-3/136±0/626f	14/854±0/942h
		28	53/927±0/829cd	-2/984±0/735g	13/785±0/346i
		42	46/937±0/758d	-2/875±0/812g	12/863±0/228j
		56	40/128±0/826de	-1/753±1/032h	12/238±0/627j

حروف آماری مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است

گراول‌های نشاسته توسط کریستال‌های یخ می‌باشد که این امر باعث افزایش واکنش‌های مایلارد و در نتیجه کاهش روشنایی کوکی شد (Yi & Kerr, 2009). توزیع مجدد آب و در دسترس

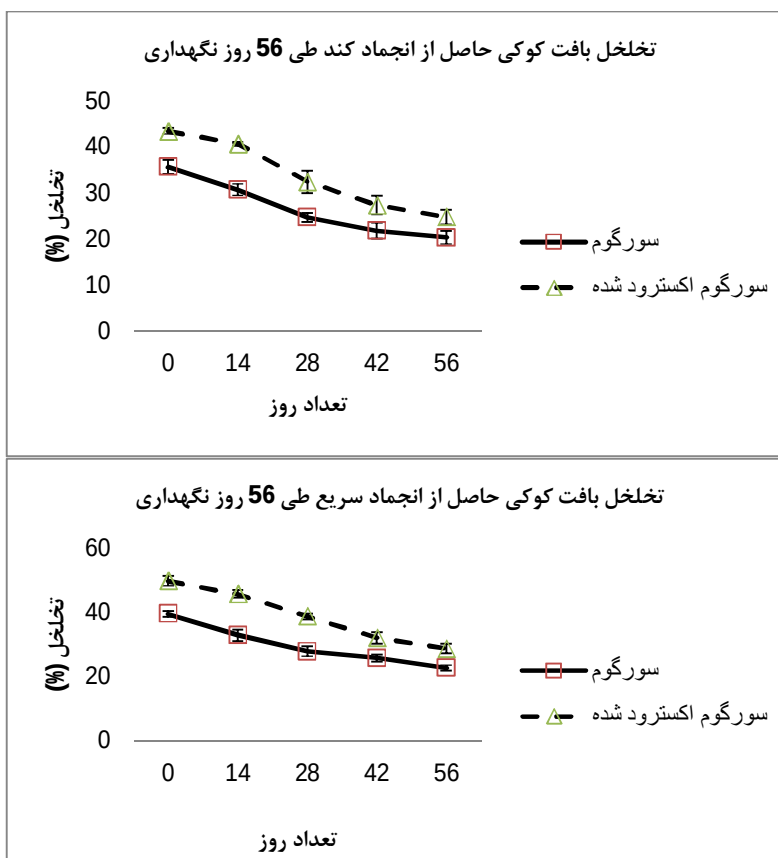
نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری خمیر منجمد کوکی پارامتر L* کاهش یافت. علت این پدیده احتمالاً افزایش آمیلوز نشست کرده و دکسترین تجزیه در اثر آسیب به بافت خمیر و

میزان L^* و b^* و بیشترین میزان a^* بود. واکنش‌های قهوه‌ای شدن مایلارد در حین فرآیند اکستروود کردن و کاراملیزاسیون قند هم می‌تواند ایجاد پیگمان‌های رنگی در حین پخت کند (Sacchetti et al., 2004) و میزان روشنایی نمونه‌ها را کاهش دهد. علت این امر مربوط به ترکیبات و اجزا موجود در پوسته و یا هسته دانه سورگوم است که هرچه عمل آسیاب کردن کامل‌تر انجام گیرد، میزان این ترکیبات تیره نیز کمتر خواهد بود (Torres et al., 1993).

تخلخل کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره نگهداری و شرایط انجماد مختلف

همان‌طور که در شکل 3 مشاهده می‌شود با افزایش مدت زمان نگهداری خمیر منجمد کوکی تخلخل بافت کوکی به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کاهش پیدا می‌کند.

بودن آن در خمیر منجمد، از دیگر عواملی هستند که می‌توانند در تیره شده رنگ کوکی، نقش مهمی داشته باشند (Yi & Kerr, 2009). Kessoglou و Ginnou (2003) و Yi و Kerr (2008) نیز بیان کردند که با نگهداری خمیرها به‌صورت منجمد، رنگ پوسته و مغز نمونه‌ها تیره‌تر شد. همچنین مشاهده شده کوکی‌های منجمد شده در شرایط انجماد سریع روشنایی کمتری نسبت نمونه‌های منجمد شده در شرایط انجماد کند داشت. Yi و Kerr (2008) بیان کردند که سرعت‌های انجماد بالاتر و دماهای پایین‌تر نگهداری خمیر به‌صورت منجمد سبب تیره‌تر شدن رنگ نمونه‌های شد. طی دوره نگهداری خمیر منجمد پارامتر b^* کوکی حاصل از آن کاهش یافت؛ که نشان‌دهنده زردی کمتر این نمونه‌ها بود و پارامتر a^* افزایش یافت. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش سرعت انجماد پارامتر b^* و a^* کاهش یافت و رنگ این کوکی‌ها تیره‌تر بود. کوکی‌های حاوی آرد سورگوم اکستروود شده دارای کمترین



شکل 3- تخلخل بافت کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره نگهداری در شرایط انجماد و شرایط مختلف انجماد.

تیرک‌های ترسیم شده روی نقاط، نشان‌دهنده انحراف استاندارد داده‌های اندازه‌گیری شده است. حروف آماری مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است

البته طی دو هفته ابتدایی کاهش معنی‌داری نداشت و از هفته دوم به کاهش معنی‌داری داشت. طی نگهداری خمیر منجمد

همچنین به دلیل نوسانات دمای حین نگهداری خمیر منجمد در شرایط انجماد ممکن تبلور مجدد کریستال‌های یخ روی دهد، این عوامل سبب آسیب به بافت خمیر می‌شود و بعد از مرحله خروج از انجماد آب آزاد بیشتری از نمونه خارج می‌شود و میزان آب قابل اتصال کاهش می‌یابد و هرچه میزان رطوبت اولیه نمونه‌ها کمتر باشد در مرحله پخت خروج آب به‌صورت بخار کمتر اتفاق می‌افتد و پوسته با قطر کمتر و کندتر تشکیل می‌شود. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش سرعت انجماد خمیر، قطر پوسته کوکی نیز افزایش پیدا کرد و علت امر کاهش آسیب‌های ناشی از انجماد از طریق کریستال‌های یخ کوچک‌تر و یکنواخت‌تر بود.

همان‌طور که مشاهده می‌شود (شکل 4) نمونه حاوی آرد سورگوم اکستروژن شده به‌طور معنی‌داری بیشتر بود و علت این امر فرایند اکستروژن است که سبب افزایش اندیس جذب آب خمیر می‌شود و از این طریق میزان آب قابل اتصال را افزایش می‌دهد. همچنین کوکی حاوی آرد سورگوم اکستروژن نشده قطر پوسته کمتری داشت و علت این امر پایین بودن محتوی رطوبت آرد سورگوم و کاهش میزان آب قابل اتصال طی دوره نگهداری در شرایط انجماد است.

آنالیز حسی کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره نگهداری و شرایط مختلف انجماد

نتایج مربوط به آنالیز حسی کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره نگهداری 8 هفته‌ای و شرایط مختلف انجماد در جدول 4 نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد امتیاز مربوط به رنگ کوکی با افزایش مدت زمان نگهداری کوکی کاهش یافت و در هفته آخر امتیاز کسب شده ≥ 3 بود. تردی، تخلخل، آروما و طعم و پذیرش کلی نیز با افزایش مدت زمان نگهداری خمیر منجمد امتیاز کمتری به‌دست آوردند. در واقع طی دوره نگهداری خمیر منجمد در شرایط انجماد به دلیل رشد کریستال‌های یخ و تبلور مجدد کریستال‌های بافت آسیب به بافت خمیر بیشتر می‌شود و میزان آب قابل اتصال خمیر کاهش می‌یابد و در نتیجه ویژگی‌های حسی کوکی امتیاز کمتری کسب کردند. مطابق نتایج به‌دست آمده با افزایش سرعت انجماد امتیاز، ویژگی‌های حسی نیز بهبود یافتند. انجماد سریع از طریق ایجاد کریستال‌های ریز و یکنواخت آسیب کمتری به بافت خمیر وارد می‌کند و باعث بهبود ویژگی‌های حسی کوکی حاصل از خمیر منجمد می‌شود. Annika و همکاران (2011) بیان کردند که خصوصیات حسی نان‌های حاصل از خمیر منجمد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر دمای نگهداری خمیر (10-، 15- و 20-) در مدت انجماد بود. این محققان تفاوت معنی‌داری در طعم، بو و الاستیسته بین نمونه‌های نگهداری شده در دماهای 10- و 15- درجه سانتی‌گراد مشاهده کردند. همان‌طور که در جدول 4 مشاهده می‌شود

کریستال‌های ریز یخ رشد پیدا می‌کنند و بزرگ‌تر می‌شوند و همچنین به دلیل نوسانات دمای حین نگهداری خمیر منجمد در شرایط انجماد ممکن تبلور مجدد کریستال‌های یخ روی دهد، این عوامل سبب آسیب به بافت خمیر می‌شود و بعد از مرحله خروج از انجماد آب آزاد بیشتری از نمونه خارج می‌شود و میزان آب قابل اتصال کاهش می‌یابد و در مرحله پخت خروج آب به‌صورت بخار کمتر اتفاق می‌افتد و تخلخل بافت کوکی کاهش می‌یابد.

افزایش سرعت انجماد خمیر نیز مطابق شکل 3 باعث افزایش تخلخل بافت کوکی حاصل از خمیر منجمد شد. این پدیده احتمالاً به دلیل تشکیل کریستال‌های کوچک یخ در انجماد سریع و آسیب کمتر به بافت خمیر و گرانول‌های نشاسته می‌باشد (Meziani et al., 2008; Angioloni et al., 2011). بنابراین، توانایی خمیر در حفظ آب قابل اتصال افزایش یافته و خروج آب در اثر پخت بیشتر صورت می‌گیرد و تخلخل افزایش می‌یابد. همچنین حضور صمغ زانتان می‌تواند آسیب‌های ناشی از انجماد را از طریق جذب آب بیشتر و ایجاد خمیر پایدارتر بهبود می‌بخشد (Vania & Weibiao, 2001; Rosell et al., 2007; Mandala, 2005). نیز گزارش کردند که در نتیجه افزودن صمغ زانتان به فرمول خمیر منجمد اثر منفی انجماد بر تخلخل نان کاهش یافت.

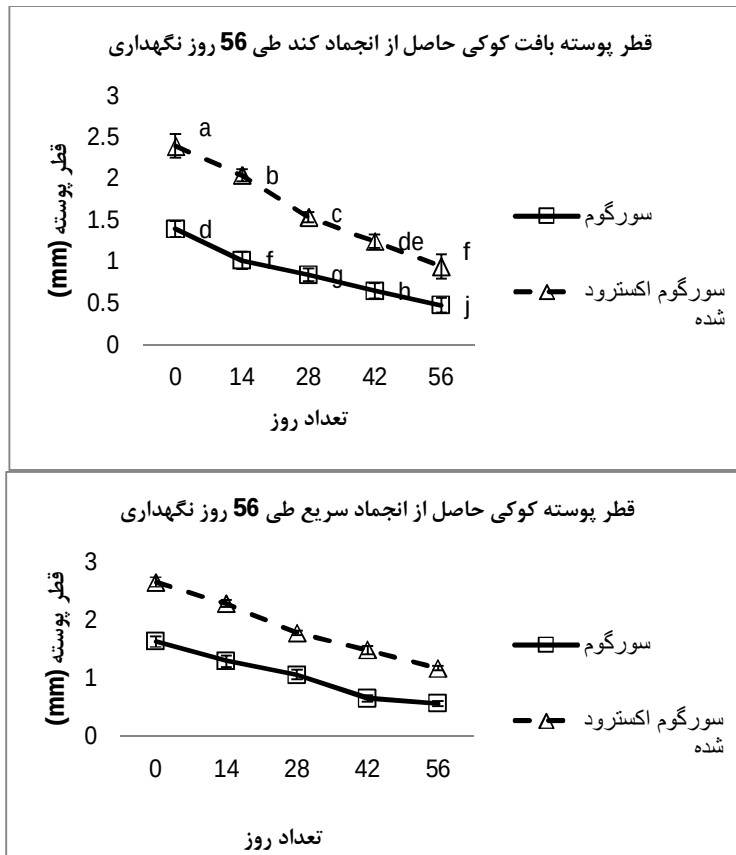
نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که تخلخل بافت کوکی‌های حاصل از خمیر منجمد حاوی آرد سورگوم اکستروژن شده به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بیشتر بود. همان‌طور که ذکر شد فرایند اکستروژن سبب افزایش اندیس جذب آب می‌شود. پاتیل و همکاران (2016) بیان کردند که رطوبت بالا در نان حاوی آرد اکستروژن شده مربوط به اندیس جذب آب بالای آرد آرد اکستروژن شده است؛ بنابراین کوکی‌های حاصل از آرد اکستروژن شده رطوبت بالاتری نسبت به نمونه‌های اکستروژن نشده داشتند و این امر سبب افزایش تخلخل شد. به‌طور کلی هر چه میزان رطوبت بالاتر باشد در حین پخت خروج رطوبت سریع‌تر و بیش‌تر صورت می‌گیرد و در نتیجه درصد تخلخل نیز افزایش می‌یابد آرد سورگوم به دلیل داشتن رطوبت پایین و عدم حضور گلوتن نمی‌تواند تخلخل بافت مناسبی ایجاد کند. البته حضور صمغ زانتان سبب افزایش رطوبت خمیر می‌شود و میزان آب قابل اتصال را افزایش می‌دهد و تخلخل بافت را در این نمونه‌ها بهبود می‌بخشد.

قطر پوسته کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره نگهداری و شرایط مختلف انجماد

همان‌طور که در شکل 4 مشاهده می‌شود با افزایش مدت زمان نگهداری خمیر منجمد کوکی قطر پوسته کوکی به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کاهش پیدا کرد. طی نگهداری خمیر منجمد کریستال‌های ریز یخ رشد پیدا می‌کنند و بزرگ‌تر می‌شوند و

بافت سفت این نمونه‌ها بود و مشاهده شد با افزایش زمان نگهداری رنگ، تخلخل و آروما و طعم کوکی‌های حاصل از خمیر منجمد حاوی 100 درصد آرد سورگوم اکستروژن نشده امتیازی پایین‌تر از 3 در شرایط انجماد کند به دست آورد.

کوکی‌های حاوی آرد سورگوم اکستروژن شده امتیاز بالاتری از نظر پذیرش کلی داشته اما از نظر رنگ امتیاز پایین‌تری داشت که علت این امر افزایش واکنش‌های مایلارد طی فرآیند اکستروژن است. کمترین میزان امتیاز مربوط به نمونه‌های حاوی 100 درصد آرد سورگوم اکستروژن نشده بود که به دلیل رطوبت پایین، بافت شنی و



شکل 4- قطر پوسته کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره نگهداری در شرایط انجماد و شرایط مختلف انجماد.

تیرک‌های ترسیم شده روی نقاط، نشان‌دهنده انحراف استاندارد داده‌های اندازه‌گیری شده است. حروف آماری مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است.

اکستروژن شده به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) ضریب نفوذ مؤثر بیشتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشت و مقدار آن برابر با $6/64 \times 10^{-7}$ با ضریب تبیین 0/9271 برای انجماد کند و $6/83 \times 10^{-7}$ با ضریب تبیین 0/9874 برای انجماد سریع بود. همان‌طور که بیان شده کوکی‌های آرد سورگوم اکستروژن شده چون دارای میزان رطوبت و تخلخل بیشتری است، ضریب نفوذ مؤثر در این نمونه‌ها بیشترین مقدار است؛ و کوکی‌های حاوی 100 درصد آرد سورگوم اکستروژن نشده به دلیل داشتن رطوبت پایین‌تر و تخلخل کمتر، کمترین میزان ضریب نفوذ مؤثر را داشتند.

کنتیک انتقال جرم کوکی حاصل از خمیر منجمد طی دوره

نگهداری و شرایط مختلف انجماد

جدول 5 تأثیر دوره نگهداری و شرایط انجماد بر ضریب نفوذ مؤثر رطوبت در کوکی‌های حاصل از خمیر منجمد را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری خمیر منجمد، ضریب نفوذ مؤثر کاهش یافت و مقدار آن برای کوکی تهیه شده با سورگوم اکستروژن شده در روز اول $6/83 \times 10^{-7}$ و در روز 56 برابر با $4/97 \times 10^{-7}$ برای انجماد کند بود. با افزایش سرعت انجماد به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) افزایش یافت. نمونه‌های حاوی سورگوم

جدول 4- تأثیر دوره نگهداری و شرایط مختلف انجماد بر ویژگی‌های حسی کوکی حاصل از خمیر منجمد

نوع انجماد	تیمار	مدت زمان نگهداری طی انجماد (روز)	رنگ	تردی	تخلخل	آروما و طعم	پذیرش کلی
انجماد کند	سورگوم	0	4/2±0/54b	4±0/53c	4±0/54d	4/1±0/54c	4±0/59d
		14	3/9±0/63d	3/8±0/67d	3/5±0/93g	3/7±0/51f	3/7±0/37e
		28	3/4±0/82e	3/5±0/81e	3±0/82i	3/5±0/46g	3/4±0/81f
		42	2/9±0/29g	2/9±0/28h	2/8±0/73j	3/1±0/33h	3±0/26h
		56	2/5±0/44h	2/5±0/39i	2/5±0/61k	2/8±0/24i	2/7±0/36i
سورگوم اکستروود شده		0	4±0/57c	4/4±0/58b	4/3±0/42b	4/4±0/49b	4/4±0/48b
		14	3/7±0/92d	4/1±0/23c	4±0/39d	4±0/52d	4/1±0/26c
		28	3/1±0/42d	3/9±84d	3/8±0/71e	3/7±0/39f	3/8±0/38e
		42	2/9±0/39g	3/6±0/92e	3/5±0/84g	3/5±0/62g	3/4±0/49f
		56	2/4±0/27h	3/2±0/38f	3/3±0/62g	3/2±0/29h	3/2±0/62g
انجماد سریع	سورگوم	0	4/5±0/24a	4/3±0/49b	4/1±0/84c	4/3±0/82b	4/4±0/52b
		14	4±0/68c	3/9±0/51d	3/7±0/88e	4±0/44d	4±0/37d
		28	3/6±0/71d	3/4±0/44e	3/2±0/76h	3/8±0/63e	3/6±0/41f
		42	3/3±0/61f	3±0/35g	3±0/39i	3/5±0/81g	3/3±0/52
		56	2/8±0/69g	2/8±0/48g	2/9±0/43i	3/2±0/76h	3±0/63
سورگوم اکستروود شده		0	4/2±0/74b	4/7±0/39a	4/5±0/39a	4/6±0/39a	4/6±0/52a
		14	3/9±0/52c	4/3±0/23b	4/2±0/52c	4/2±0/48c	4/2±0/94c
		28	3/5±0/66e	4±0/34c	4±0/81d	4±0/52d	4±0/29d
		42	3/1±0/73f	3/8±0/48d	3/9±0/93d	3/8±0/36e	3/8±0/51e
		56	2/6±0/29h	3/5±0/42e	3/7±0/39e	3/5±0/29g	3/5±0/88f

حروف آماری مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است

جدول 5- تأثیر دوره نگهداری و شرایط مختلف انجماد بر ضریب نفوذ مؤثر کوکی حاصل از خمیر منجمد

نوع انجماد	تیمار	مدت زمان نگهداری طی انجماد (روز)	$K \times 10^{-2} (s^{-1})$	$Deff \times 10^{-7} (m^2/s)$	R^2
انجماد کند	سورگوم+1% زانتان	0	3.39	2.63	0.9275
		14	3.12	2.16	0.8291
		28	2.65	1.84	0.9271
		42	2.25	1.37	0.7917
		56	2.02	1.24	0.8291
سورگوم اکستروود شده+1% زانتان		0	5.61	6.64	0.9271
		14	5.16	6.22	0.8725
		28	4.86	5.68	0.7926
		42	4.31	5.39	0.9285
		56	4.19	4.97	0.9283
انجماد سریع	سورگوم+1% زانتان	0	3.54	2.86	0.9764
		14	3.28	2.31	0.8659
		28	2.84	2.17	0.9874
		42	2.49	1.83	0.8765
		56	2.17	1.49	0.9874
سورگوم اکستروود شده+1% زانتان		0	5.83	6.83	0.9874
		14	5.52	6.38	0.9528
		28	5.13	5.97	0.7984
		42	4.76	5.58	0.9813
		56	4.32	5.34	0.9372

نتیجه‌گیری

در این تحقیق تأثیر روش‌های انجماد و مدت زمان نگهداری خمیر منجمد کوکی بر ویژگی‌های فیزیک و شیمیایی کوکی حاوی

جرم کوکی حاصل از خمیر منجمد نشان داد که ضریب نفوذ مؤثر کوکی با افزایش مدت زمان نگهداری خمیر منجمد در شرایط انجماد کاهش یافت. در مجموع نتایج نشان دادند که فرآیند اکستروژن آرد سورگوم سبب بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی کوکی شده است و فرآیند انجماد سریع باعث بهبود کیفیت کوکی حاصل از خمیر منجمد شده است و در این شرایط می‌توان از آرد سورگوم اکستروژن شده به عنوان جایگزین مناسب گندم برای تولید کوکی استفاده کرد. همچنین استفاده از خمیر منجمد برای تولید کوکی می‌تواند روش مناسبی برای عرضه این محصول باشد.

100 درصد آرد سورگوم اکستروژن شده و نشده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که سرعت انجماد بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی کوکی حاصل از خمیر منجمد مؤثر بود، به طوری که تمامی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی (به جز پارامتر روشنایی رنگ کوکی) و حسی نمونه‌های حاصل از انجماد سریع از کیفیت بهتری برخوردار بودند. نتایج نشان داد که کوکی حاوی آرد سورگوم اکستروژن شده نیز طی 8 هفته نگهداری از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی (به جز روشنایی رنگ کوکی) و حسی مطلوب‌تری برخوردار بود و دلیل این امر فرآیند اکستروژن بود که سبب افزایش اندیس جذب آب می‌شود و این ویژگی‌ها را بهبود می‌بخشد. نتایج مربوط به کنتیک انتقال

منابع

- قیطران‌پور، آ.، 1392، بررسی تأثیر افزودن ایزوله پروتئین سویا بر کنتیک انتقال جرم، ویژگی‌های فیزیکی و روند انتقال جرم در آن، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، گروه علوم و صنایع غذایی.
- غیور اصلی، م. ع.، حداد خداپرست، م. ح. و کریمی، م.، 1387، تأثیر آنزیم آلفا آمیلاز و اسید اسکوربیک و بر خصوصیات رئولوژیکی خمیر و حجم مخصوص نان اُستروژل، مجله پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، 55 - 47.
- Angioloni, A., Balestra, F., Pinnavaia, G.G., & Rosa, M.D., 2008, Small and large deformation tests for the evaluation of frozen dough viscoelastic behavior, *Journal of Food Engineering*, 87 (4), 527-531.
- Annika, A., Ayse, A., & Ulf, S., 2011, Influence of bread preparation, frozen storage temperature and time, and fiber content, Sensory Evaluation of Bread., Master of Science Thesis in the Master Degree Programme Biotechnology, Ayse Alp Department of Chemical and Biological Engineering, Division of food Science, Chalmers University Of Technology, Goteborg, Sweden.
- Asghar, A., Anjum, F. M., Butt, M. S., & Hussain, S., 2007, Shelf Life and Stability Study of Frozen Dough Bread by the Use of Different Hydrophillic Gums, *International. Journal of Food Engineering*, 2-3.
- Awika, J. M., & Rooney, L. W., 2004, Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health, *Phytochemistry*, 65 (9), 1199-1221.
- Bassinello, P.Z., Freitasb, D.D.G.C., Ascherib, J. L. R., Takeitib, C. Y., Carvalhoa, R. N., Koakuzua, S.N., & Carvalhoc, A. V., 2011, Characterization of cookies formulated with rice and black bean extruded flours, *Procedia Food Science*, 1, 1645 – 1652.
- Caray, J.A., & Bemiller, J.N., 2003, Bread Staling:Molecular Basis and control.Comprehensive, *Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 1-3.
- Dendy, D.A.V., 1995, Sorghum and the millets: Production and importance, Pages 11-26 in: Sorghum and Millets, Chemistry and Technology. AACC International: St. Paul, MN.
- FAOSTAT Agriculture Statistics Database, 2004, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy.
- Faraj, A., Vasanthan, T., & Hoover, R., 2004, The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours, *Food Research International*, 37, 517-525.
- Fasano, A., and Catassi, C., 2001, Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: An evolving spectrum, *Gastroenterology*, 120, 636-651.
- Gambus, H., Sikora, M., & Ziobro, R., 2007, The effect of composition of hydrocolloids on properties of gluten-free breads, *ACTA Scientiarum Polonorum - Technologia Alimentaria*, 6, 61-74.
- Gallagher, E., Gormley, T.R., & Arendt, E.K., 2004, Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products, *Trends in Food Science and Technology*, 15, 143-152.
- Giannou, V., & Tzia, C., 2007, Frozen dough bread: Qualitt and textural behavior during prolonged storage – Prediction of final product characteristics, *Journal Food Engineering*, 79 (3), 929-934.
- Ginnou, V., & Kessoglou, V., 2003, Quality and safety characteristics of bread made from frozen dough, *Journal of Food science & Technology*, 14, 99-108.
- Gray, J., & Bemiller J., 2003, Bread staling: molecular basis and control, Rev in Food Science and Food Safety, 2, 1-21.
- Guptaa, M., Bawa, A.S., & Abu-Ghannam, N., 2011, Effect of barley flour and freeze-thaw cycles on textural nutritional and functional properties of cookies, food and bioproducts processing, 89, 520-527.
- Havet, M., Mankai, M., & Le Bail, A., 2000, Influence of the freezing condition on the baking performances of French frozen dough, *Journal of Food Engineering*, 45 (3), 139-145.
- Herbert, W., 2006, Chemistry of gluten proteins, *Journal of Food Microbiology*, 240, 115-119.

- X.u, H.N., Huang, W., Jia, C., Kim, Y., & Liu, H., 2009, Evaluation of water holding capacity and breadmaking properties for frozen dough containing ice structuring proteins from winter wheat, *Journal of Cereal Science*, 49, 250-253.
- Ilo, S., Schoenlechner, R., & Berghofe, E., 2000, Role of lipids in the extrusion cooking processes, *Grasas y Aceites*, 51(1-2), 97-110.
- Jafari, M. Koocheki, A., & Milani, E., 2017, Effect of extrusion cooking on chemical structure, morphology, crystallinity and thermal properties of sorghum flour extrudates, *Journal of Cereal Science*, 75, 324-331.
- Jia, C., Huang, W., Abdel-Samie, M.A.S., Huang, G., & Huang, G., 2011, Dough rheological, Mixolab mixing, and nutritional characteristics of almond cookies with and without xylanase, *Journal of Food Engineering*, 105, 227-232.
- Jinhee, Y.i., & William, L. K., 2009, Combined effects of dough freeing and storage conditions on bread quality factors, *Journal of Food Engineering*, 93, 495-501.
- Ke, S., Hailong, Y.u., & Tung-Ching, L., 2013, A novel approach for improving yeast viability and baking quality of frozen dough by adding biogenic ice nucleators from *Erwinia herbicola*, *Journal of Cereal Science*, 57, 237-243.
- Kim, Y. S., Huang, W., DU, G., Pan, Z., & Chung, O., 2008, Effects of trehalose, transglutaminase, and gum on rheological, fermentation, and baking properties of frozen dough, *Food research international*, 41, 903-908.
- Koushki, M.R., Khoshgozaran Abras, S., & Azizi, M.H., 2011 Effect of flour type, freezing method and storage time on the quality of Barbari bread made from frozen dough, *Iranian Journal Nutrition Science Food Technology*, 5(4); 65-74 [in Persian].
- Ktina, K., Salmenkallio-Marttila, M., Partanen, R., Forssell, P., & Autio, K., 2006, Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread, *LWT-Food Science Technology*, 39:479-491.
- Mandala, I. G., 2005, Physical properties of fresh and frozen, microwave-reheated breads, containing hydrocolloids, *Journal of food engineering*, 66, 291-300.
- Martínez, M. M., Oliete, B., Román, L., & Gómez, M., 2014, Influence of the addition of extruded flours on rice bread quality, *Journal of Food Quality*, 37(2), 83-94.
- Matuda, T. G., Chevallier, S., Filho, P., Le bail, A., & Tadini, C. C., 2008, Impact of guar and xanthan gums on proofing and calorimetric parameters of frozen bread dough, *Journal of cereal science*, 48, 741-746.
- Meziani, S., Jasniowski, J., Gaiani, C., Ioannou, I., Muller, J. M. Ghoul, M., & Desobry, S., 2011, Effects of freezing treatments on viscoelastic and structural behavior of frozen sweet dough, *Journal of Food Engineering*, 107, 358-365.
- Meziani, S., Jasniowski, J., Gaiani, C., Ioannou, I., Muller, J. M. Ghoul, M., & Desobry, S., 2011, Effects of freezing treatments on viscoelastic and structural behavior of frozen sweet dough, *Journal of Food Engineering*, 107, 358-365.
- Meziani, S., Jasniowski, J., Ribotta, P., Arab-Tehrany, E., Muller, J.M., Ghoul, M., & Desobry, S., 2012, Influence of yeast and frozen storage on rheological, structural and microbial quality of frozen sweet dough, *Journal of Food Engineering*, 109, 538-544.
- Naji-Tabasi, S., & Mohebbi, M., 2014, Evaluation of cress seed gum and xanthan gum effect on macrostructure properties of gluten-free bread by image processing, *Food Measure*, DOI 10.1007/s11694-014-9216-1.
- Nakamura, T., Takagi, H., & Shima, J., 2009, Effects of iceseeding temperature and intracellular trehalose contents on survival of frozen *Saccharomyces Cerevisiae* cells, *Cryob-iology*, 58(2), 170-174.
- Patil, S.S., Rudra, S.G., Varghese, E., & Kaur, C., 2016, Effect of extruded finger millet (*Eleusine coracana* L.) on textural properties and sensory acceptability of composite bread, *Food Bioscience*, 14(2), 62-69.
- Paykary M., Karim R., Aghazadeh M., & Kazemi M., 2012, Gluten free extruded products: a review, International conference on agricultural and food engineering for life (Cafei2012) 26-28 November 2012.
- Ribotta, P.D., Pérez, G.T., León, A.E., & Añón, M.C., 2004, Effect of emulsifier and guar gum on micro structural, rheological and baking performance of frozen bread dough, *Food Hydrocolloids*, 18, 305-313.
- Riha, W. E., Hwang, C. F., Karwe, M. V., Hartman, T. G., & Ho, C. T., 1996, Effect of cysteine addition on the volatiles of extruded wheat flour, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1847-1850.
- Ronda, F., GÃmez, M., Blanco, C.A., & Caballero, P.A., 2005, Effects of polynondigestible oligosaccharides on the quality of sugar-free sponge cakes, *Food Chemistry*, 90, 549-555.
- Rooney, L.W., & Waniska, R.D., 2000, Sorghum food and industrial utilization, Pages 689-750 in: *Sorghum: Origin, History, Technology, and Production*. C.W. Smith and R. A. Frederiksen, eds. John Wiley and Sons: New York.
- Rosell, C.M., Rojas, J. A., & Benedito, C., 2001, Combined effect of different antistaling agents on the Pasting properties of wheat flour, *European Food Research and Technology*, 212, 473-476.
- Sacchetti, G., Pinnavaia, G.G., Guidolin, E., & Dalla Rosa, M., 2004, Effects of extrusion temperature and feed composition on the functional, physical and sensory properties of chestnut and rice flour based snack-like products, *Food Research International*, 37, 527-534.
- Sakin, M., Kaymak-Ertekin, F., & Ilcali, C., 2007, Simultaneous heat and mass transfer simulation applied to convective oven cupcake baking, *Journal of Food Engineering*, 83(3), 463-474.

Shittu, T. A., Dixon, A., Awonorin, S. O., Sanni, L. O., & Maziya-Dixon, B., 2008, Bread from composite Cassava-wheat flour, II: Effect of cassava genotype and nitrogen fertilizer on bread quality, *Food Research International*, 41: 569-578.

Torres, P.I., Ramirez-Wong, B., Serna-Saldivar, S.O., & Rooney, L.W., 1993, Effect of sorghum flour addition on the characteristics of wheat flour tortillas, *Cereal Chemistry*, 70, 8-13.

Vania, O.S., & Weibiao, Z., 2007, Frozen bread dough: Effects of freezing storage and dough improvers, *Journal of Cereal science*, 45, 1-17.

Walker, S., Seetharaman, K., & Goldstein, A., 2012, Characterizing physicochemical changes of cookies baked in a commercial oven, *Food Research International*, 48, 249-256.

Yi, J., & Kerr, W.L., 2008, Combined effects of freezing rate, storage temperature, and storage time on the properties of frozen dough and baking performance of frozen dough, *Journal of Food science*, 42, 1474-1483.

Yi, J., & Kerr, W.L., 2009, Combined effects of freezing rate, storage temperature and time on bread dough and baking properties, *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1474-1483.



Cookie from extruded sorghum flour: Effect of extrusion and freezing conditions on frozen dough and cookie quality

N. Hasanoor¹, M. Mohebbi^{2*}, A. Koocheki², E. Milani³

Received: 2018.02.12

Accepted: 2018.07.07

Introduction: Nowadays, frozen dough technology is used to produce bakery, pastry & cakes products. On the other hand, extrusion plays a role as a high-performance process in the food industry, which, given its unique characteristics, can replace many common methods of food processing. This study was carried out aimed to investigate the effect of freezing methods (slow and rapid) and the storage time of frozen dough under freezing conditions on physicochemical and sensory properties of extruded and non-extruded sorghum flour for producing a gluten-free product suitable for Coeliac patients.

Materials and methods: In this study, extruded sorghum flour (an extruder with a temperature of 150-160°C, a moisture content of 14%, a speed of 150 rpm, feeding of 40 grams per minute and circular matrix with a diameter of 5 mm and, in the last step, using a grinding mill and 0.599 mm mesh, flouring is done), non-extruded sorghum flour (100%), Xanthan gum (1% w/w) were used in cookie dough formulation. Two types of slow and fast freezing were used to freeze the dough of cookie. Slow freezing according to the method provided by X.u *et al.* (2009) and Ke *et al.* (2013). In a fast freezing method, rapid cooling rooms were used at -40°C for 30 minutes. After freezing, the samples were placed in polyethylene bags and stored for 0, 2, 4, 6 and 8 weeks in a refrigerator at -18°C (X.u *et al.*, 2009). For the thaw process, dough pieces were placed in a refrigerator at + 4°C for 16 hours (Maizani *et al.*, 2012). Baking was performed in a microwave oven at 180°C for 14 minutes. The properties of the final product, such as the ratio of expandability (AACC 10-52), textural properties (cookie texture were carried out using a TA.XTplus Texture Analyzer (Walker *et al.*, 2012)), total gelatinization and enthalpy temperature (Using the DSC device and temperature range 7-157°C and heating temperature 10°C/min), color, percentage of porosity, shell thickness (Image processing technique and ImageJ software) and sensory evaluation were investigated in a completely randomized factorial. Statistical analysis of the results was done using a factorial arrangement of completely randomized design and comparison of the meanings using Duncan's multiple range tests at 5% level. Data analysis was performed with three replications using SPSS 18 software.

Results & discussion: The gelatinization temperature decreased with increasing times of storage; however, the total enthalpy of the process was increased. The results showed that with increasing freezing rate, the gelatinization temperature increased significantly ($P \leq 0.05$), and the total enthalpy of the process decreased and the cookie from frozen dough containing extruded sorghum flour has the highest gelatinization temperature and the minimum total enthalpy value. With increasing times of storage, the dough chewiness decreased significantly ($P \leq 0.05$) and the adhesion and stiffness of the dough texture increased. The dough chewiness increased with the increase in the freezing rate, however, the adhesion and stiffness of the dough texture decreased and cookie dough containing extruded sorghum flour resulted in a significantly higher chewiness and lower adhesion and stiffness ($P \leq 0.05$) of the texture compared to the non-extruded sorghum cookie flour in both methods of freezing. The extensibility ratio has significantly decreased ($P \leq 0.05$) with increasing the times of storage. The extensibility ratio of cookie was significantly increased with the increase in freezing rate ($P \leq 0.05$) and non-extruded sorghum flour samples showed a lower extensibility ratio relative to the extruded sorghum flour cookies. The dough freezing method also had a significant effect on the final cookie quality ($P \leq 0.05$). The stiffness of the cookie texture from the frozen dough decreased by increasing the dough freezing rate and its tissue was softer and cookie samples containing extruded sorghum flour have a significantly lower tissue stiffness

1. PhD student, Food Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

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

3. Assistant Professor, Department of Food Processing, Iranian Academic Centre for Education Culture and Research, Mashhad, Iran

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

compared to other samples. The stiffness of the cookie tissue increased significantly ($P \leq 0.05$) with increasing times of storage. L^* parameter (lightness) significantly decreased ($P \leq 0.05$) with increasing the times of storage and decreased the yellowness factor (b^*) and increased the redness factor (a^*) significantly ($P \leq 0.05$) for the cookie made from frozen dough. The freezing rate had a significant effect ($P \leq 0.05$) on the lightness of the cookies. The parameters L^* and b^* decreased by increasing the freezing rate and the colors of these cookies were darker. Cookies containing extruded sorghum flour had the lowest level of L^* and b^* and highest level of a^* . The porosity% and thickness of crust of cookie decreased significantly ($P \leq 0.05$) with increasing times of storage. These parameters increased significantly with increasing freezing rate ($P \leq 0.05$) and tissue porosity and thickness of crust of cookies obtained from the frozen dough containing extruded sorghum flour was significantly higher ($P \leq 0.05$). The results of the kinetics of cookie mass transfer from frozen dough showed that the effective moisture diffusivity of cookie was reduced by increasing times of storage. Overall, the results showed that the process of extruding sorghum flour has improved the physicochemical properties of the cookie, and the fast freezing process improves the quality of the cookie made from frozen dough, and in this condition extruded flour sorghum can be used as a suitable alternative to wheat. Also, the use of frozen dough for cookie production can be a good way to supply this product.

Key words: cookie, sorghum flour, extrusion, freezing, mass transfer **kinetics**



اثر ترکیب خوراک و متغیرهای فرایند بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کف‌های جامد تشکیل شده از نشاسته ذرت و دانه کنجد به روش اکستروژن

شهرام بیرقی طوسی¹ - محبت محبی^{2*} - مهدی وریدی³

تاریخ دریافت: 1395/12/17

تاریخ پذیرش: 1396/07/22

چکیده

در این پژوهش اثر متغیرهای ترکیب خوراک، دمای فرایند، سرعت چرخش ماردون و قطر منفذ قالب در فرایند اکستروژن بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی کف‌های تولید شده بر پایه نشاسته ذرت حاوی دانه کنجد مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور دانه کنجد با نسبت‌های صفر، 10، 20 و 30 درصد با نشاسته ذرت در رطوبت نهایی 15 درصد مخلوط گردید. برای تولید کف‌ها، مخلوط‌های تهیه شده با مقدار 40 کیلوگرم بر ساعت وارد اکسترودر دو ماردون با چرخش هم جهت شد. متغیرهای دما در سه سطح 120، 145 و 170 درجه سانتی‌گراد، سرعت چرخش ماردون در سطوح 120، 150 و 180 دور بر دقیقه و قطر منفذ قالب در دو سطح 2/5 و 4 میلی‌متر روی آنها اعمال شد. با بررسی نتایج آزمون‌ها مشخص گردید افزودن 10 درصد دانه کنجد باعث بیشینه انبساط و تخلخل و کمینه چگالی ذره‌ای نمونه‌ها شد در حالی که افزودن 30 درصد دانه کنجد به دلیل افزایش میزان چربی و کاهش فشار فرایند دقیقاً نتایج مخالف نشان داد. افزایش دمای فرایند و سرعت چرخش ماردون و کاهش قطر منفذ قالب که باعث افزایش انرژی اعمال شده بر مواد درون اکسترودر می‌شوند شاخص انحلال در آب و انبساط کف‌ها را افزایش و میزان رطوبت باقی‌مانده، شاخص جذب آب و چگالی آنها را کاهش دادند.

واژه‌های کلیدی: اکسترودر، دمای فرایند، سرعت چرخش ماردون، قالب، رطوبت باقی‌مانده، چگالی، انبساط

مقدمه

یکی از مهمترین ویژگی‌های فرایند اکستروژن در صنعت غذا ایجاد فراورده‌ای با بافت یکنواخت و شکل خاص می‌باشد. در این فرایند مواد بیوپلیمری نظیر نشاسته با رطوبت پایین پس از اعمال دما و فشار تبدیل به بیوپلیمر مذاب شده که هنگام خروج از منفذ قالب، آب فوق داغ بیوپلیمر مذاب به بخار تبدیل و در فاز پیوسته پراکنده می‌شود. با خروج بخار و سرد شدن سریع فراورده، ساختار سلول‌ها شکل می‌گیرد و کف جامد با شکل قالب تولید می‌شود (Kalin, 1979; Nam, 2002).

ترکیب مواد اولیه از مهمترین عوامل موثر بر ویژگی‌های کف جامد غذایی تهیه شده به روش اکستروژن می‌باشد. از اجزای اصلی تشکیل دهنده خوراک در فرایند اکستروژن مواد غذایی علاوه بر

نشاسته و رطوبت می‌توان به چربی، پروتئین و فیبر اشاره کرد. اگرچه روغن‌ها و چربی‌ها در غلظت‌های پایین تأثیرات قابل توجهی بر فرایند تخریب نشاسته ندارند و حتی با ایجاد پیوند با آن می‌توانند باعث افزایش حجم فراورده اکستروژن شده شوند اما در غلظت‌های بالا می‌توانند تجزیه و شکسته شدن بیوپلیمرهای نشاسته را به اندازه‌ای کاهش دهند که افزایش حجمی در ماده اکستروژن دیده نشود. از سوی دیگر پروتئین‌ها طی فرایند پخت اکستروژن دناتوره می‌شوند که این امر منجر به از دست رفتن ظرفیت جذب آب آنها می‌شود و شرایط مناسبی برای تشکیل پیوندهای درون و بین مولکولی پروتئین با آمیلوز و آمیلوپکتین به وجود می‌آورد. بنابراین افزودن پروتئین نیز می‌تواند تخریب مولکولی نشاسته را کاهش دهد. همچنین مشخص شده است موادی نظیر فیبرها که در شرایط اکستروژن به حالت غیرمحلول باقی می‌مانند باعث کاهش میزان انبساط نمونه شده، میزان چگالی آن را افزایش می‌دهند (Lue et al., 1991; Moraru et al., 2003; Lazou et al., 2010; Yadav et al., 2013).

از دیگر عوامل موثر بر ویژگی‌های کف جامد غذایی تهیه شده به روش اکستروژن، شرایط فرایند می‌باشد. پژوهشگران مختلف با توجه به شرایط مورد بررسی خود تأثیر هر یک از متغیرهای فرایند را بر ویژگی‌های فراورده اکستروژن شده متفاوت گزارش کرده‌اند. فشار از

1- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد و استادیار، گروه پژوهشی فراوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی، خراسان رضوی.

2 و 3- به ترتیب استاد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

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

DOI: 10.22067/food.v1396i0.63179

سانتی گراد و قطر منفذ قالب 2/5 و 4 میلی متر اکسترودر گردید. پس از سرد شدن فراورده های اکسترودر شده روی نوارنقاله، نمونه برداری انجام شد و نمونه ها درون کیسه های پلی اتیلنی ضخیم زیپ دار کدگذاری شده قرار گرفته، درب بندی انجام شد. نمونه ها تا انجام آزمایش ها دور از نور و در دمای اتاق نگهداری شد.

رطوبت باقی مانده

رطوبت باقی مانده در نمونه ها که نشان دهنده میزان اختلاف دمای مواد درون اکسترودر و محیط بیرون در نمونه های با ترکیب خوراک یکسان است به روش آون گذاری در دمای 105 درجه سانتی گراد اندازه گیری شد (AOAC, 1990).

شاخص جذب آب¹ و شاخص انحلال در آب²

برای اندازه گیری شاخص جذب آب و شاخص انحلال در آب از روش Huang و همکاران (2014) با برخی تغییرات استفاده شد به این صورت که 5 میلی لیتر آب مقطر به 0/5 گرم نمونه ی آسیاب و الک شده با مش 30 درون لوله های سانتریفوژ افزوده شد و به مدت 30 ثانیه با شیکر لوله و در ادامه 30 دقیقه در شیکر با سرعت 100 دور بر دقیقه هم زدن انجام شد. سپس 15 دقیقه در سانتریفوژ با دور 3000 g قرار گرفت. ماده خشک مایع رویی حاصل از سانتریفوژ، به روش آون گذاری در 105 درجه سانتی گراد اندازه گیری شد و از نسبت آن به وزن نمونه، شاخص انحلال در آب محاسبه شد. ژل باقی مانده در مرحله سانتریفوژ نیز وزن شد و از نسبت آن به وزن نمونه، شاخص جذب آب به دست آمد (Singh et al., 2015; Huang et al., 2014).

چگالی ذره ای

برای اندازه گیری چگالی ذره ای از روش جابجایی ارزن با اصلاحاتی مشابه روش Singh و همکاران (2015) استفاده شد. ابتدا وزن آب مقطر پر شده در داخل ظرف دارای حجم مشخص اندازه گیری شد. بار دیگر وزن دانه ارزن پر شده در ظرف اندازه گیری و چگالی ارزن با در نظر گرفتن چگالی آب مقطر برابر با یک محاسبه شد. سپس چند عدد از نمونه های تولیدی توزین شده، داخل ظرف قرار داده شد و بقیه فضای خالی ظرف توسط دانه های ارزن پر شد. از رابطه زیر برای به دست آوردن چگالی ذره ای نمونه های کف استفاده شد (Singh et al., 2015).

$$\text{چگالی ذره ای} = \frac{\text{چگالی ارزن} \times \text{وزن نمونه}}{\text{وزن نمونه} + (\text{وزن ظرف حاوی ارزن} - \text{وزن ظرف حاوی نمونه})} \quad (1)$$

¹ Water Absorption Index (WAI)

² Water Solubility Index (WSI)

اصلی ترین متغیرهای فرایند اکستروژن مواد غذایی است که به طور مستقیم و غیرمستقیم تحت تاثیر نوع و میزان خوراک، سرعت چرخش ماردون، دمای فرایند و قطر منفذ قالب می باشد و باعث بروز یا تغییر در شدت واکنش های درون و برون مولکولی و ویژگی های ترکیبات خوراک می شود. کاهش قطر منفذ قالب یا مقدار مواد روان کننده نظیر آب و چربی در ترکیب خوراک و یا افزایش دمای فرایند یا سرعت چرخش ماردون باعث افزایش فشار فرایند می شود. همچنین افزایش دما علاوه بر تشدید تغییرات فرایندی پخت باعث افزایش اختلاف دما بین مواد درون اکسترودر و محیط بیرون شده و میزان و سرعت خروج بخار آب را از فراورده پس از خروج از منفذ قالب افزایش می دهد و بر ساختار و ویژگی های کف جامد غذایی تاثیر می گذارد (Moraru et al., 2003; Plews et al., 2009; O'Shea et al., 2014).

کنجد یکی از قدیمی ترین دانه های خوراکی شناخته شده توسط بشر است که در فراورده های غذایی مصرف بالایی دارد. این دانه علاوه بر کربوهیدرات حاوی مقادیر زیادی چربی، پروتئین و فیبر می باشد. (Namiki et al., 2001).

این پژوهش با هدف بررسی تاثیر جایگزینی درصدی از نشاسته ذرت با دانه ای خوراکی که حاوی مخلوطی از ترکیبات متنوع می باشد و تاثیر شرایط فرایند اکستروژن بر چگونگی تغییرات در ویژگی های فیزیکوشیمیایی کف جامد تولیدی نسبت به کف تولید شده با نشاسته ذرت انجام شد به این منظور با افزودن نسبت های مختلف دانه کنجد به نشاسته ذرت با رطوبت مشخص و سپس اعمال فرایند اکستروژن، تاثیر ترکیب خوراک، دمای فرایند، سرعت چرخش ماردون و قطر منفذ قالب در فرایند اکستروژن، بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی کف های جامد تولیدی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

نشاسته طبیعی ذرت تولیدی (Cargill، برزیل) متشکل از 25 درصد آمیلوز و 75 درصد آمیلوپکتین و دانه کنجد پوست گیری شده از عمده فروشی لوازم قنادی مشهد خریداری شد. به منظور آماده سازی نمونه ها برای عملیات اکستروژن، دانه کنجد به نسبت های مشخص (صفر، ده، بیست و سی درصد) با نشاسته ذرت مخلوط گردید و برای رسیدن رطوبت به 15 درصد به آن آب مقطر افزوده و در کیسه های پلی اتیلنی بسته بندی شد. برای به تعادل رسیدن رطوبت، نمونه ها به مدت یک شب در دمای محیط نگهداری شدند. مخلوط پایه آماده شده، توسط اکسترودر دوماردون با چرخش هم جهت از (Jinan Saixin (DS56-III، چین) و نسبت طول به قطر 15 با شرایط میزان خوراک 40 کیلوگرم در ساعت، سرعت چرخش ماردون 120، 150 و 180 دور بر دقیقه، دمای اکستروژن 120، 145 و 170 درجه

چگالی جامد

برای اندازه‌گیری چگالی جامد، وزن مشخصی از نمونه آسیاب و الک شده با مش 30 درون استوانه مدرج ریخته شد و به آرامی روی میز زده شد تا زمانی که کاهش حجمی مشاهده نشود سپس حجم آن تعیین شد. از نسبت وزن به حجم تعیین شده برای به‌دست آوردن چگالی جامد نمونه‌های کف استفاده شد (Ushakumari *et al.*, 2004; Yagci *et al.*, 2008).

تخلخل

تخلخل نمونه‌های کف با استفاده از چگالی‌های به‌دست آمده و طبق رابطه زیر محاسبه گردید (Plews *et al.*, 2009; O'Shea *et al.*, 2014).

$$(2) \quad \text{تخلخل} = \frac{\text{چگالی ظاهری} - \text{چگالی جامد}}{\text{چگالی جامد}}$$

نسبت انبساط شعاعی

برای محاسبه نسبت انبساط شعاعی، از هر تیمار ده نمونه به‌طور تصادفی انتخاب شد و قطر آن‌ها با استفاده از کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد. میانگین اندازه‌های گرفته شده به‌عنوان قطر نمونه تعیین شد. نسبت انبساط شعاعی از تقسیم قطر نمونه بر قطر منفذ قالب اکسترودر به‌دست آمد (Chanlat *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2014).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

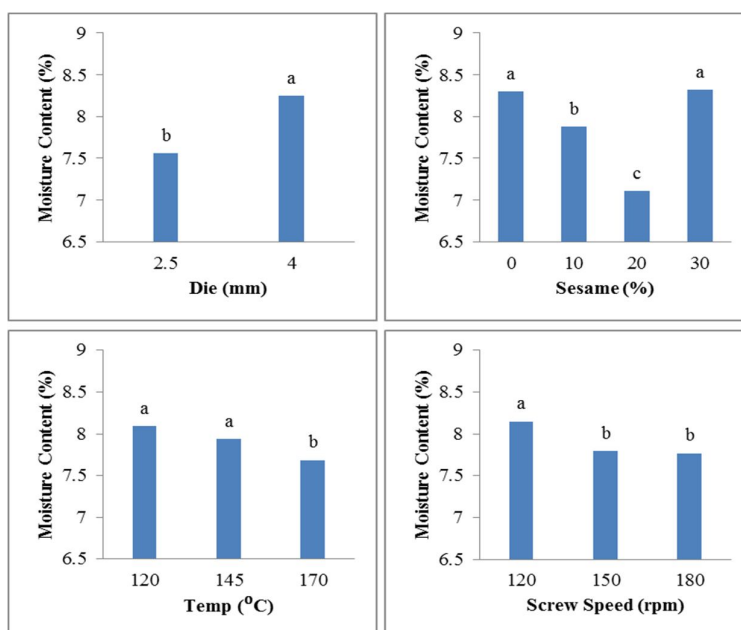
این تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار فاکتور نسبت دانه کنجد (چهار سطح)، سرعت چرخش ماردون (سه سطح)، دمای اکستروژن (سه سطح) و قطر منفذ قالب (دو سطح) در سه تکرار انجام شد و داده‌های حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. پس از تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها برای صفت‌های مورد بررسی با استفاده از آزمون Bonferroni در سطح اطمینان 95 درصد توسط نرم‌افزار Minitab 17 انجام شد. محاسبات و رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 انجام شد.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج به‌دست آمده از آنالیز و مقایسه میانگین داده‌ها می‌توان اثر ترکیب خوراک و متغیرهای فرایند را بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کف‌های جامد تولیدی به شرح زیر مورد بررسی قرار داد.

تأثیر شرایط فرایند بر رطوبت باقی‌مانده در نمونه‌ها

همان‌طور که در شکل 1 مشاهده می‌شود رطوبت باقی‌مانده در نمونه‌ها با افزایش درصد کنجد در ترکیب خوراک تا 20% کاهش و سپس افزایش نشان داد



شکل 1- تأثیر قطر منفذ قالب، درصد کنجد، دمای فرایند و سرعت چرخش ماردون بر رطوبت باقی‌مانده در نمونه‌ها

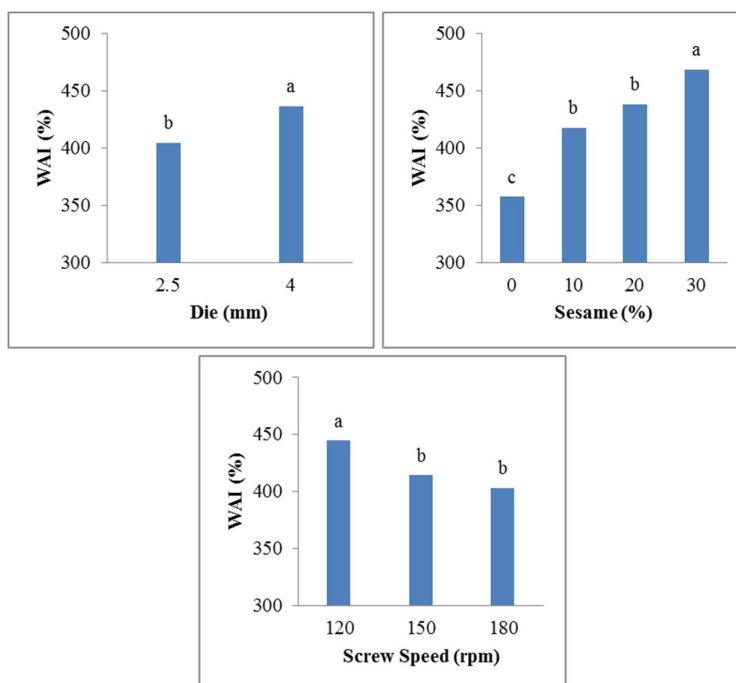
تأثیر شرایط فرایند بر شاخص جذب آب نمونه‌ها

با توجه به نتایج نشان داده شده در شکل 2 مشاهده می‌شود که تغییرات شاخص جذب آب نمونه‌ها با درصد کنجد و قطر منفذ قالب هم جهت اما با سرعت چرخش ماردون خلاف جهت بود که این نتایج مشابه با گزارش Huang و همکاران (2014) بود. با افزایش درصد کنجد در ترکیب خوراک میزان پروتئین و فیبر نمونه‌ها افزایش می‌یابد که خاصیت جذب آب این دو ترکیب می‌تواند بر افزایش شاخص جذب آب نمونه‌ها با درصد کنجد بیشتر موثر باشد. همچنین افزایش کنجد، به دلیل اضافه شدن میزان چربی و در نتیجه افزایش روان کنندگی، می‌تواند مشابه با افزایش قطر منفذ قالب، باعث کاهش فشار وارده بر مواد درون اکسترودر شده و تخریب نشاسته و پروتئین کمتر صورت گیرد در نتیجه جذب آب این نمونه‌ها بیشتر می‌باشد. اما با افزایش سرعت چرخش ماردون، سرعت برشی افزایش یافته در نتیجه باعث تخریب پروتئین و نشاسته می‌گردد و میزان جذب آب کاهش می‌یابد (Moraru et al., 2003; Yagci et al., 2008; Brennan et al., 2012; Singh et al., 2015).

با بررسی نتایج مشخص شد دمای فرایند اعمال شده در این پژوهش تأثیر معنی‌داری ($p > 0.05$) بر شاخص جذب آب نمونه‌ها نداشت.

با افزایش درصد کنجد میزان چربی نمونه‌ها افزایش می‌یابد در نتیجه تمایل به نگهداری آب کمتر می‌شود اما اضافه شدن چربی از حدی بیشتر به دلیل ویژگی روان‌کنندگی می‌تواند موجب کاهش اثر فرایند بر تخریب نشاسته گردد، همچنین با بیشتر شدن کنجد میزان فیبر محصول افزایش می‌یابد و در نتیجه فراورده تمایل بیشتری به نگهداری رطوبت در خود دارد. میزان بالای ظرفیت نگهداری آب نشان‌دهنده میزان فیبر و نشاسته بیشتر آن نمونه می‌باشد (Deshpande et al., 2011).

تغییرات رطوبت باقی‌مانده در نمونه‌ها با قطر منفذ قالب هم جهت بود اما با دمای فرایند و سرعت چرخش ماردون خلاف جهت بود. O'Shea و همکاران (2014) نیز در پژوهش خود به اثر مخالف دمای فرایند و سرعت چرخش ماردون بر میزان رطوبت باقی‌مانده در فراورده اکسترودر شده رسیدند. از آنجا که افزایش قطر منفذ قالب و کاهش سرعت چرخش ماردون باعث کاهش اختلاف فشار وارده بر مواد قبل و بعد از قالب و کاهش دمای فرایند باعث کاهش اختلاف دمای آنها می‌شود، خروج بخار آب از فراورده کمتر صورت می‌پذیرد. همچنین سرعت چرخش ماردون باعث ایجاد تنش برشی شده و این تنش برشی همراه با فشار بالا باعث از هم گسیخته شدن نشاسته و از بین رفتن شکل کریستالی آن می‌گردد، در نتیجه توانایی نگهداری آب کاهش می‌یابد (Harper et al., 1979; Onyango et al., 2004; Singh et al., 2015).



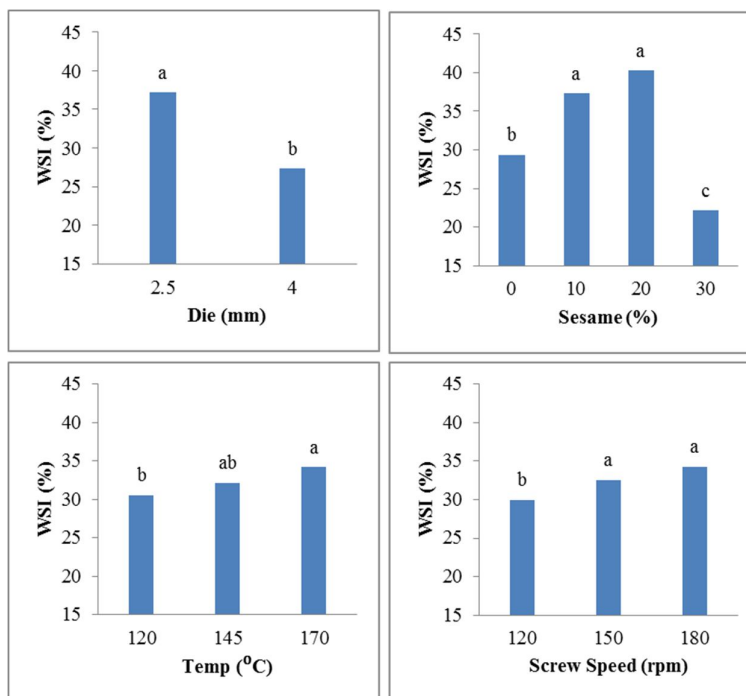
شکل 2- تأثیر قطر منفذ قالب، درصد کنجد و سرعت چرخش ماردون بر شاخص جذب آب نمونه‌ها

که افزایش میزان پروتئین، باعث افزایش میزان شاخص انحلال در آب نمونه اکسترودر شده می‌گردد. البته افزودن بیشتر کنجد (30 درصد) به دلیل افزایش میزان چربی مواد درون اکسترودر می‌تواند باعث روان‌کنندگی زیاد در اکسترودر شده، اثر فرایند را برای تخریب نشاسته و پروتئین کاهش دهد و در نتیجه شاخص انحلال در آب نمونه‌ها کاهش یابد (Moraru et al., 2003).

بررسی نتایج نشان داد شاخص انحلال در آب نمونه‌ها با افزایش قطر منفذ قالب کاهش یافت (شکل 3) اما افزایش سرعت چرخش ماردون همانند دمای فرایند باعث افزایش شاخص انحلال در آب نمونه‌ها شد. این رفتار بر خلاف تغییرات شاخص جذب آب نمونه‌ها می‌باشد که می‌تواند به دلیل تغییر میزان فشار وارده بر مواد در اکسترودر باشد که در نتیجه افزایش آن، تغییرات و شکستن نشاسته و پروتئین نیز افزایش می‌یابد و قابلیت حل شدن در آب بیشتر می‌شود (Moraru et al., 2003; Chanlat et al., 2011).

تأثیر شرایط فرایند بر شاخص انحلال در آب نمونه‌ها

شاخص انحلال در آب می‌تواند به‌عنوان شاخص از هم پاشیدگی و کاهش وزن ملکولی نشاسته و سایر ترکیبات و تبدیل آن به ملکول‌های محلول طی اکستروژن محسوب گردد (Sriburi et al., 2000; Lazou et al., 2010; Charunuch et al., 2014). همانطور که در شکل 3 مشخص است افزودن کنجد به ترکیب خوراک باعث افزایش شاخص انحلال در آب نمونه‌ها نسبت به کف-های تهیه شده از نشاسته ذرت به تنهایی شد. هر چند این افزایش تا افزودن 20 درصد کنجد اتفاق افتاد و افزودن 30 درصد کنجد کاهش قابل ملاحظه‌ای در شاخص انحلال در آب نمونه‌ها نشان داد. دلیل افزایش این شاخص با افزودن کنجد به ترکیب خوراک می‌تواند افزایش میزان پروتئین و فیبر در فراورده باشد این نتایج مشابه گزارش Badrie و همکاران (1992) بود که با افزایش در میزان مخلوط آرد بادام زمینی و غلات مشاهده کردند که شاخص انحلال در آب افزایش یافت. Balasubramanian و همکاران (2012) نیز گزارش کرده‌اند



شکل 3- تأثیر قطر منفذ قالب، درصد کنجد، دمای فرایند و سرعت چرخش ماردون بر شاخص انحلال در آب نمونه‌ها

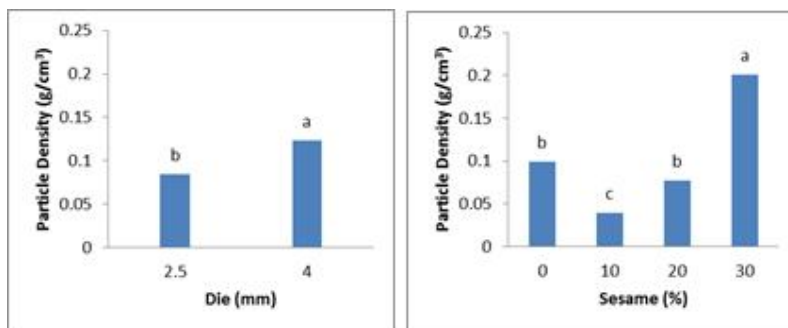
شده، با ایجاد برهمکنش بین آنها به ویژه پروتئین و نشاسته، شبکه قابل انبساطی ایجاد می‌شود و فراورده‌ای با چگالی کمتر بوجود می‌آید. با ادامه روند افزایش درصد کنجد در ترکیب خوراک و در نتیجه افزایش جایگزینی نشاسته با چربی، پروتئین و فیبر میزان کربوهیدرات کاهش یافت و تراکم کف افزایش پیدا کرد. با افزایش میزان چربی، اثر فشار وارده بر مواد داخل اکسترودر کاهش یافته، کف

تأثیر شرایط فرایند بر چگالی ذره‌ای نمونه‌ها

همان طور که در شکل 4 مشاهده می‌شود چگالی ذره‌ای نمونه‌ها با اضافه شدن 10% کنجد به ترکیب خوراک کاهش و با ادامه روند افزایش درصد کنجد افزایش یافت هرچند فقط نمونه حاوی 30% کنجد چگالی ذره‌ای بیشتری از نمونه تهیه شده با نشاسته کامل داشت. افزودن کنجد باعث افزایش تنوع ترکیبات موجود در اکسترودر

چگالی فراورده بدون کنجد این محققان با پژوهش حاضر می‌تواند به دلیل استفاده آنها از بلغور ذرت به جای نشاسته ذرت باشد که تنوع ترکیبات موجود در بلغور طبق موارد عنوان شده عامل کمتر بودن چگالی ذره‌ای فراورده بدون کنجد در یافته‌های این محققان می‌باشد.

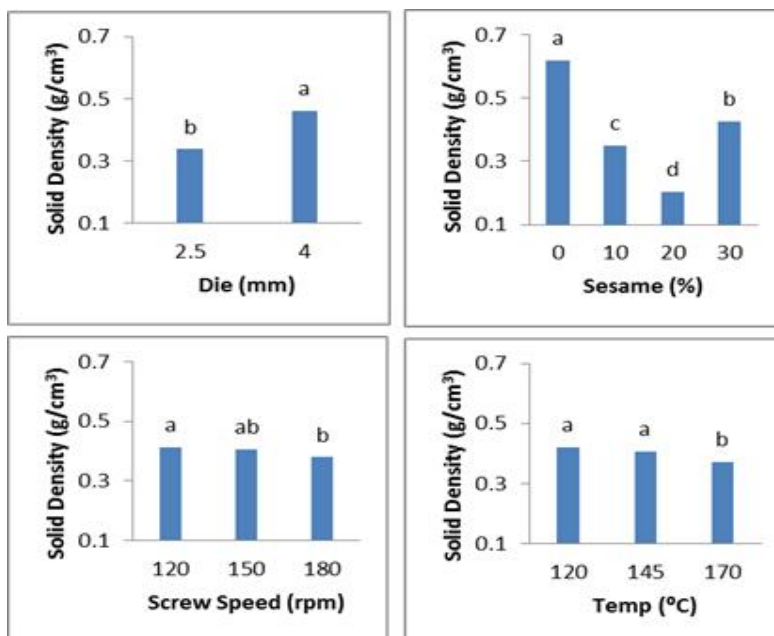
متراکم‌تری پس از خروج مواد مذاب از منفذ قالب ایجاد می‌شود. Charunuch و همکاران (2014) افزایش میزان چگالی را همسو با افزایش فیبر در فراورده اکستروژده گزارش کرده‌اند. همچنین Nikmaram و همکاران (2015) نیز روند افزایشی چگالی ذره‌ای را با افزایش میزان کنجد در فراورده گزارش کردند البته تفاوت در نتایج



شکل 4- تاثیر قطر منفذ قالب و درصد کنجد بر چگالی ذره‌ای نمونه‌ها

تاثیر شرایط فرایند بر جامد واقعی نمونه‌ها با توجه به نتایج نشان داده شده در شکل 5 مشاهده می‌شود که چگالی جامد نمونه‌ها با افزودن کنجد به ترکیب خوراک کاهش یافت که می‌تواند به دلیل افزایش میزان چربی با چگالی کم در فراورده باشد.

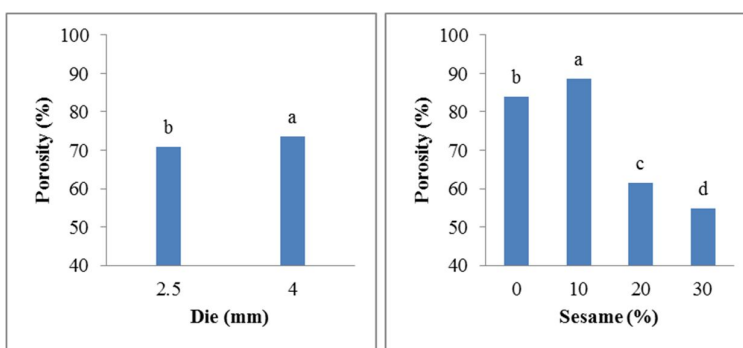
با افزایش قطر منفذ قالب افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) در چگالی ذره‌ای نمونه‌ها ایجاد شد (شکل 4) که می‌تواند به دلیل کاهش اختلاف فشار وارده بر مواد در قبل و بعد از قالب باشد که باعث افزایش حجم کمتری در فراورده می‌شود. طبق نتایج به‌دست آمده با شرایط مورد بررسی در این پژوهش، تغییرات دمای فرایند و سرعت چرخش ماردون اثر معنی‌داری ($p > 0.05$) بر چگالی ذره‌ای نمونه‌ها نداشت.



شکل 5- تاثیر قطر منفذ قالب، درصد کنجد، دمای فرایند و سرعت چرخش ماردون بر چگالی جامد نمونه‌ها

تأثیر شرایط فرایند بر تخلخل نمونه‌ها

همانطور که در شکل 6 مشاهده می‌شود، تخلخل کف‌های تولید شده با افزایش درصد کنج در ترکیب خوراک تا 10 درصد افزایش یافته، سپس کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) نشان داد. افزودن کنج باعث افزایش تنوع ترکیبات موجود در اکسترودر شده و با ایجاد برهمکنش بین آنها به ویژه پروتئین و نشاسته، شبکه قابل انبساطی ایجاد می‌شود و فراورده‌ای با چگالی کمتر بوجود می‌آید. با ادامه روند افزایش درصد کنج در ترکیب خوراک و در نتیجه افزایش محتوای چربی، اثر فشار وارده بر مواد داخل اکسترودر کاهش یافته، کف متراکم‌تری پس از خروج مواد مذاب از منفذ قالب ایجاد می‌شود. همچنین با افزایش درصد کنج میزان فیبر نمونه افزایش می‌یابد و از آنجا که وجود موادی نظیر فیبرها که در شرایط اکسترودر به حالت غیرمحلول باقی می‌مانند باعث شکسته شدن حبابهای هوا شده، میزان انبساط کاهش می‌یابد (Lue et al., 1991; Moraru et al., 2003; Lazou et al., 2010; Yadav et al., 2013). Yagci و همکاران (2008) در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که با افزایش میزان درصد آرد فندق مقداری چربی‌گیری شده، تخلخل نمونه فراورده اکسترودر شده کاهش یافت.



شکل 6- تأثیر قطر منفذ قالب و درصد کنج بر تخلخل نمونه‌ها

شعاعی نمونه‌ها با افزودن کنج در ترکیب خوراک مشابه تغییرات تخلخل آنها می‌باشد (شکل 7) و دلایل آن نیز می‌تواند مشابه با موارد گفته شده در مورد تخلخل باشد. با افزایش بیش از 10 درصد کنج در ترکیب خوراک به دلیل افزایش جایگزینی نشاسته با چربی، پروتئین و فیبر میزان کربوهیدرات کاهش یافت که در کنار افزایش میزان چربی سبب انبساط کمتر در کف‌ها شد. Nikmaram و همکاران (2015) نیز روند افزایشی انبساط شعاعی فراورده اکسترودر شده را با افزایش میزان کنج گزارش کردند. افزایش میزان پروتئین در فرایند اکسترودر بر میزان توزیع آب در ماتریکس بین سلولی و افزایش میزان پیوند بین ترکیبات اثر می‌گذارد همچنین افزایش فیبر باعث جذب و حفظ آب بیشتر می‌شود که این عوامل سبب کاهش میزان انبساط‌پذیری محصول شده، مانع از پف کردن نمونه می‌گردد. از

هرچند نمونه حاوی 30% کنج چگالی جامد بیشتری نسبت به نمونه‌های حاوی 10 و 20% کنج داشت که دلیل آن می‌تواند از یک سو افزایش میزان فیبر و خاکستر و از سوی دیگر بیشتر شدن محتوای چربی و تأثیر کمتر فرایند بر تخریب نشاسته و پروتئین در نتیجه امکان نگهداری بیشتر رطوبت باشد.

چگالی جامد نمونه‌ها با افزایش قطر منفذ قالب افزایش یافت (شکل 5). این افزایش به دلیل کاهش اختلاف فشار وارده بر مواد در قبل و بعد از قالب و در نتیجه خروج کمتر رطوبت از محصول می‌باشد، در حالیکه افزایش دمای فرایند و سرعت چرخش ماردون به طور معنی‌دار ($p < 0.05$) باعث کاهش چگالی جامد نمونه‌ها شد. افزایش دمای فرایند باعث بالاتر بودن دمای مواد مذاب هنگام خروج از منفذ شده، رطوبت بیشتری از فراورده به صورت بخار خارج می‌شود. افزایش سرعت چرخش ماردون نیز باعث افزایش اختلاف فشار قبل و بعد از قالب شده و خروج رطوبت از فراورده را بیشتر می‌کند. همانطور که مشاهده می‌شود روند تغییرات چگالی جامد نمونه‌ها (شکل 5) مطابق با رطوبت باقی‌مانده (شکل 1) و مخالف با شاخص انحلال در آب (شکل 3) آنها می‌باشد.

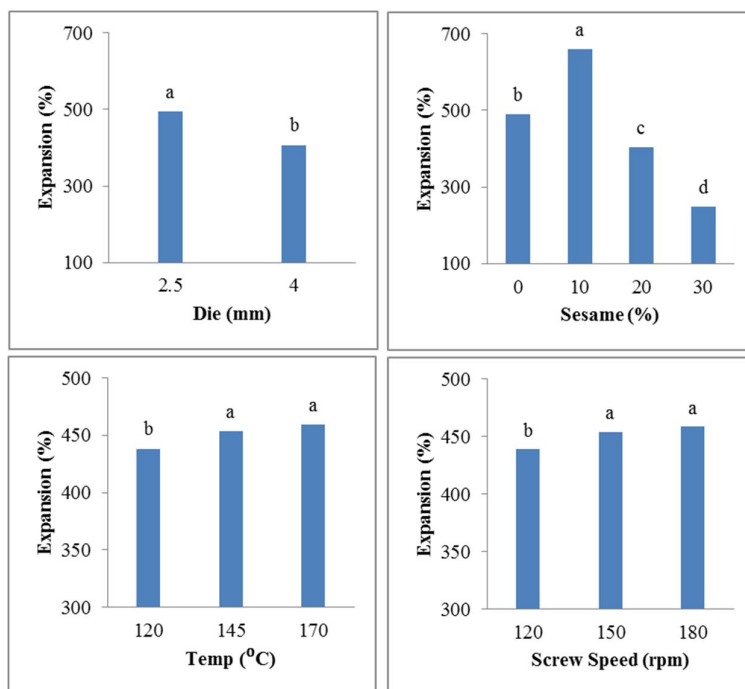
با مقایسه میانگین داده‌ها مشخص شد که با افزایش قطر منفذ قالب تخلخل افزایش یافت (شکل 6). هر چند با افزایش قطر منفذ هم چگالی ذره‌ای و هم چگالی جامد افزایش یافته است اما به دلیل افزایش بیشتر چگالی ذره‌ای، تخلخل نیز افزایش یافته است و به این معنی است که افزایش نگهداری رطوبت تأثیر بیشتری نسبت به کاهش اختلاف فشار قبل و بعد از قالب در شرایط این پژوهش داشته است. طبق نتایج به دست آمده با شرایط مورد بررسی در این پژوهش، تغییرات دمای فرایند و سرعت چرخش ماردون تأثیر معنی‌داری ($p > 0.05$) بر تخلخل نمونه‌ها نداشتند.

تأثیر شرایط فرایند بر انبساط شعاعی نمونه‌ها

بررسی نتایج حاصل از پژوهش نشان داد روند تغییرات انبساط

چرخش ماردون همانند دمای فرایند افزایش یافت. افزایش سرعت چرخش ماردون باعث افزایش اختلاف فشار قبل و بعد از منفذ و اصطکاک درون اکسترودر شده و افزایش دمای فرایند نیز باعث افزایش دمای مایع فوق داغ درون اکسترودر می گردد در نتیجه خروج بخار آب سریعتر انجام می شود و افزایش انبساط در نمونه به وجود می آید. Onyango و همکاران (2004) گزارش کرده اند که افزایش سرعت چرخش ماردون باعث افزایش نیروی مکانیکی و افزایش دمای مخلوط آرد و در نتیجه افزایش الاستیسیته محصول اکسترودر شده گردیده، در نهایت باعث افزایش میزان انبساط نمونه می شود.

سویی پروتئین و چربی باعث کاهش تنش برشی در دستگاه اکسترودر می گردد و بنابراین باعث کاهش فشار ماردون و کاهش اختلاف فشار بین داخل اکسترودر و اتمسفر می گردد (Moraru et al., 2003; Charunuch, O'Shea et al., 2014) و همکاران (2014) نیز گزارش کرده اند که فیبرهای موجود در مخلوط موجب کاهش حل شدن نشاسته گردیده، باعث کاهش میزان پف کردگی فرآورده می شود. همان طور که در شکل 7 مشاهده می شود با افزایش قطر منفذ قالب انبساط شعاعی نمونه ها کاهش پیدا کرد، که علت آن می تواند کمتر بودن فشار ایجاد شده در قالب با قطر منفذ بیشتر نسبت به قالب با قطر منفذ کمتر باشد. انبساط شعاعی نمونه ها با افزایش سرعت



شکل 7- تاثیر قطر منفذ قالب، درصد کنجد، دمای فرایند و سرعت چرخش ماردون بر انبساط شعاعی نمونه ها

نتیجه گیری

همانطور که عنوان شد ترکیب خوراک و شرایط فرایند می تواند بر ویژگی های فیزیکی شیمیایی کف های تولیدی تشکیل شده از دانه کنجد و نشاسته ذرت به روش اکستروژن تاثیر زیادی داشته باشد. افزودن مقداری دانه کنجد به نشاسته ذرت در فرایند اکستروژن می تواند به دلیل ایجاد تنوع در ترکیبات (چربی، پروتئین و فیبر) و تمایل به برهمکنش آنها با یکدیگر باعث افزایش شاخص جذب آب، شاخص انحلال در آب، تخلخل و انبساط شعاعی کف ها و کاهش چگالی و میزان رطوبت باقی مانده آنها شود، هر چند افزودن بیش از اندازه کنجد به ویژه به دلیل روان کنندگی چربی و در نتیجه کاهش فشار وارده بر مواد می تواند اثرات مخالف بر کف ها ایجاد کند.

همبستگی بین صفات مورد بررسی

نتایج همبستگی بین صفات اندازه گیری شده در جدول 1 ارائه شده است. همانطور که مشاهده می شود همبستگی بالایی بین اکثر صفات وجود دارد، هرچند بین رطوبت باقی مانده و شاخص جذب آب، همچنین بین شاخص انحلال در آب و تخلخل و نیز بین چگالی جامد و انبساط شعاعی نمونه ها همبستگی معنی داری ($p > 0.01$) به دست نیامد. با توجه به نمودارهای ارائه شده به دلیل تاثیر زیاد ترکیب خوراک بر این صفات، عدم همبستگی بین آنها دور از انتظار نمی باشد. بسیاری از پژوهشگران دیگر نیز همبستگی مشابهی بین صفات مورد بررسی در این پژوهش گزارش کرده اند (Rayas-Duarte et al., 1998; Plews et al., 2009; Yadav et al., 2013).

و انبساط شعاعی کفها و کاهش میزان رطوبت باقی‌مانده، شاخص جذب آب و چگالی جامد آنها شود. در کل می‌توان چنین بیان کرد عوامل فرایندی که باعث افزایش انرژی اعمال شده بر مواد درون اکسترودر می‌شوند شاخص انحلال در آب و انبساط کفها را افزایش و میزان رطوبت باقی‌مانده، شاخص جذب آب و چگالی آنها را کاهش می‌دهند. در نتیجه با انتخاب درست نوع و میزان مواد تشکیل دهنده خوراک برای ایجاد تناسب در تنوع ترکیبات و تعیین شرایط مناسب فرایندی می‌توان با استفاده از مواد اولیه در اختیار، کفهای جامد غذایی با ویژگی دلخواه به روش اکستروژن تولید کرد.

افزایش قطر منفذ قالب با کاهش فشار وارده بر مواد درون اکسترودر می‌تواند باعث افزایش میزان رطوبت باقی‌مانده، شاخص جذب آب، چگالی و تخلخل کفها و کاهش شاخص انحلال در آب و انبساط شعاعی آنها شود. افزایش دمای فرایند با تشدید اختلاف دمای مواد مذاب قبل و بعد از قالب، همچنین افزایش برهمکنش بین ترکیبات، سیالیت مواد درون اکسترودر و تغییرات فرایندی پخت می‌تواند باعث افزایش شاخص انحلال در آب و انبساط شعاعی کفها و کاهش میزان رطوبت باقی‌مانده و چگالی جامد آنها شود. افزایش سرعت چرخش ماردون با افزایش فشار و کاهش اثر دما بر مواد درون اکسترودر می‌تواند باعث افزایش شاخص انحلال در آب

جدول 1- همبستگی بین صفات رطوبت باقی‌مانده، شاخص جذب آب، شاخص انحلال در آب، چگالی ذره‌ای، چگالی جامد، تخلخل و انبساط شعاعی کفهای تولیدی

	Moisture	WAI	WSI	Particle Density	Solid Density	Porosity
WAI	0.111 ^{ns}					
WSI	-0.730**	-0.330**				
Particle Density	0.474**	0.234**	-0.603**			
Solid Density	0.714**	-0.285**	-0.565**	0.310**		
Porosity	0.232**	-0.403**	0.115 ^{ns}	-0.653**	0.378**	
Expantion	-0.226**	-0.249**	0.555**	-0.715**	-0.120 ^{ns}	0.697**

اعداد مربوط به همبستگی پیرسون می‌باشد.

** معنی‌داری در سطح خطای 1% و ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جهاددانشگاهی خراسان رضوی که امکانات اجرای پژوهش را در اختیار گذاشت قدردانی می‌شود.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی سازمان

منابع

- Association of Official Analytical Chemists, AOAC (1990). Official Methods of Analysis (15th ed.). Washington, DC.
- Badrie, N. & Mellowes, W.A., 1992, Soybean flour/oil and wheat bran effects on characteristics of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) flour extrudates. *Journal of Food Science*, 57, 108–111.
- Balasubramanian, S., Borah, A., Singh, K.K. & Patil, R.T.T., 2012, Effect of selected dehulled legume incorporation on functional and nutritional properties of protein enriched sorghum and wheat extrudates. *Journal of Food Science and Technology*. 49(5), 572–79.
- Brennan, A., Menard, C., Roudaut, G. & Brennan, C.S., 2012, Amaranth, millet and buckwheat flours affect the physical properties of extruded breakfast cereals and modulate their potential glycaemic impact. *Journal of Starch Starke*, 64, 392–400.
- Chanlat, N., Songsermpong, S., Charunuch, C. & Naivikul, O., 2011, Twin-screw extrusion of pre-germinated brown rice: physicochemical properties and γ -aminobutyric acid content (gaba) of extruded snacks. *International Journal of Food Engineering*, 7, 1-18.
- Charunuch, C., Limsangouan, N., Prasert, W. & Wongkrajang, K.T., 2014, Optimization of extrusion conditions for ready-to-eat breakfast cereal enhanced with defatted rice bran. *International Food Research Journal*, 21(2), 713-722.
- Deshpande, HW. & Poshadri, A., 2011, Physical and sensory characteristics of extruded snacks prepared from Foxtail millet based composite flours. *International food research journal*, 18(2), 751-756.
- Harper, J.M. & Clark, J.P., 1979, Food extrusion. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 11(2), 155-215.
- Huang, J., Lui, W.B. & Peng, J., 2014, Effects of screw speed and sesame cake level on optimal operation conditions of

- expanded corn grits extrudates. *International Journal of Food Engineering*, 10(2), 317–328.
- Kalin, F., 1979, Wheat gluten applications in food products. *Journal of American Oil Chemistry Social*, 56, 477–479.
- Lazou, A. and Krokida, M., 2010, Functional properties of corn and corn-lentil extrudates. *Food Research International*, 43, 609–616.
- Lue, S. & Huff, H.E., 1991, Extrusion cooking of corn meal and sugar beet fiber: effects on expansion properties, starch gelatinization, and dietary fiber content. *Cereal Chemistry*, 68(3), 227–34.
- Moraru, C.I. & Kokini, J.L., 2003, Nucleation and expansion during extrusion and microwave heating of cereal foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 120–138.
- Nam, S., 2002, Extrusion technology for the development of barley cereal products and bioactive packaging materials. M.Sc. thesis, University of Manitoba, Canada.
- Namiki, M., Kobayashi, T. & Hara, H., 2001, Process of producing sesame lignans and/or sesame flavour. US patent No. 6278005 B1.
- Nikmaram, N., Garavand, F., Elhamirad, A., Beiraghi-toosi, S. & Goli-movahhed, G., 2015, Production of high quality expanded corn extrudates containing sesame seed using response surface methodology, *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 7(5), 713–720.
- O'Shea, N., Arendt, E. and Gallagher, E., 2014, Enhancing an extruded puffed snack by optimising die head temperature, screw speed and apple pomace inclusion. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 1767–1782.
- Onyango, C., Henle, T., Ziems, A., Hofmann, T. & Bley, T., 2004, Effect of extrusion variables on fermented maize–finger millet blend in the production of uji. *LWT- Food Science and Technology*, 37(4), 409–415.
- Plews, A.G. & Atkinson, A., 2009, Control of porosity and expansion in starch extrusion by monitoring pressure at die outlet. *Journal of Cellular Plastics*, 45, 67–82.
- Rayas-Duarte, P., Majewska, K. & Doetkott, C., 1998, Effects of extrusion process parameters on the quality of buckwheat flourmixes. *Cereal Chemistry*, 75, 338–345.
- Singh, B., Rachna, Hussain, S.Z. & Sharma, S., 2015, Response surface analysis and process optimization of twin screw extrusion cooking of potato-based snacks. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(3), 270–281.
- Sriburi, P. & Hill, S.E., 2000, Extrusion of cassava starch with either variations in ascorbic acid concentration or pH. *International Journal of Food Science and Technology*, 35, 141–154.
- Ushakumari S.R., Latha S. & Malleshi, N.G., 2004, the functional properties of popped, flaked, extruded and roller-dried foxtail millet (*Setaria italica*). *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 907–915.
- Yadav, D.N., Anand, T., Navnidh, I. & Singh., A.K.T., 2013, Co-extrusion of pearl millet-whey protein concentrate for expanded snacks. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 840–846.
- Yağci, S. & Göğüş, F., 2008, Response surface methodology for evaluation of physical and functional properties of extruded snack foods developed from food-by-products. *Journal of Food Engineering*, 86, 122–132.



Effect of feed mixture and process variables on physicochemical properties of solid foams made from corn starch and sesame seed by extrusion

Sh. Beiraghi-Toosi¹, M. Mohebbi^{2*}, M. Varidi³

Received: 2018.02.12

Accepted: 2018.07.07

Introduction: Extrusion is one of the technologies used for solid foams production. In this process, pressure is the most important parameter and the most important variables affecting pressure are feed mixture, die diameter, barrel temperature and screw speed. A reduction of die diameter or plasticizer contents such as moisture and fats in the feed mixture or an increase in the screw speed or barrel temperature can increase the extruder barrel pressure. Also, the increased barrel temperature, in addition to changing cooking properties, escalates the temperature difference inside and outside of the die, raising the rate and amount of evaporation from melted mixtures, therefor affecting the solid foam structure and characteristics. On the other hand, the type and amount of feed mixture components are key factors affecting the extrudate properties (Moraru *et al.*, 2003; Plews *et al.*, 2009; O'Shea *et al.*, 2014).

Sesame seed is one of the ancient edible oil seeds used in many food products. In addition to oil, it contains carbohydrate, protein and fiber (Namiki *et al.*, 2001) which can provide a variety of compounds in the feed mixture to change the properties of foam. This study investigates the effect of partial replacement of corn starch with edible oil seed containing a mixture of various compounds and the effect of the extrusion process on the changes in the physicochemical properties of the produced solid foam relative to the foam produced from corn starch. In this regard, different proportions of sesame seeds were added to the corn starch with specific moisture contents, and following the application of the extrusion process, the effect of feed mixture, operation temperature, screw speed and die diameter on physicochemical properties of solid foams was evaluated.

Materials and methods: Solid foams made from corn starch with 0, 10, 20 and 30 percent of sesame seed in the formulation and 15 percent of moisture content were processed in a co-current twin-screw extruder at a screw speed of 120, 150 and 180 rpm, a barrel temperature of 120, 145 and 170°C, a die diameter of 2.5 and 4 mm, and a constant feed rate of 40 kg per hour. A completely randomized design was employed to investigate the effect of these variables on chemical and physical properties of extruded products. The moisture content of samples was measured using oven method at 105°C (AOAC, 1990). Water absorption and water solubility indices were measured through solving the sample powder in distilled water, which was followed by centrifuging, weighing gel, drying supernatant and weighing dried matter (Singh *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2014). In addition, particle density was measured using the rapeseed displacement method (Singh *et al.*, 2015) and solid density was calculated by the weight /volume ratio of the sample powder, as measured by the gradient cylinder (Ushakumari *et al.*, 2004; Yagci *et al.*, 2008). The porosity of samples was measured in terms of the ratio of particle density to solid density (Plews *et al.*, 2009; O'Shea *et al.*, 2014) and the radial expansion ratio was calculated in terms of the ratio of sample diameter, as measured by the caliper, to die diameter (Chanlat *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2014).

Results and discussion: Results showed that adding 10% sesame seed, due to the variety of compounds and their increased interactions, produced foams of maximum expansion and porosity, and minimum particle density. Adding 30% sesame seed had an opposite effect due to increased fat content and reduced pressure effect on the melted mixture in the barrel. Moreover, increased die diameter demonstrated augmented residual moisture content, water absorption index, density and porosity, as well as decreased water solubility index and expansion ratio of solid foams caused by pressure reduction on the melted mixture in the barrel. The increased barrel temperature was associated with greater

1. PhD student, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Assistant professor, Food Processing Research Department, Food Science and Technology Research Institute, ACECR-Khorasan Razavi Branch, Mashhad, Iran.

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

3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

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

changes in cooking, escalated temperature difference between inside and outside of the die and production of foams with higher water solubility index and expansion ratio, as well as lower residual moisture content, water absorption index and solid density. The higher screw speed increased the applied energy, and despite decreasing the time of temperature effect, produced foams with properties comparable to those caused by temperature increase.

In general, it can be stated that the process factors that raise the energy applied to the extrusion material leads to the increased water solubility index and the expansion ratio of the solid foams and decreased residual moisture, water absorption index and density. Consequently, by selecting the right type and amount of feed mixture to create proportions in various compounds and determine the appropriate process conditions, solid foams with desired properties can be produced by means of extrusion using available raw materials.

Keywords: Extruder, Operation temperature, Screw speed, Die, Residual moisture, Density, Expansion.



بهینه‌یابی فرآیند خشک کردن لایه نازک گلبرگ زعفران به منظور حفظ ترکیبات زیست فعال با استفاده از روش سطح پاسخ

پروین شرایعی^{1*} - حسین چاجی¹

تاریخ دریافت: 1396/07/01

تاریخ پذیرش: 1397/02/18

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر خشک کردن لایه نازک بر ویژگی‌های کمی و کیفی گلبرگ زعفران و همچنین تعیین شرایط بهینه خشک کردن صورت پذیرفت. طراحی آزمایش تجربی خشک کردن گلبرگ زعفران با استفاده از نرم افزار سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی محوری انجام گردید. گلبرگ‌ها در دماها (40، 50 و 60 درجه سلسیوس) و سرعت‌های هوای متفاوت (0/7، 1/4 و 2/1 متر بر ثانیه) در خشک‌کن لایه نازک خشک شدند و ویژگی‌های کمی و کیفی (میزان ترکیبات فنلی کل، میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل، قدرت گیرندگی رادیکال آزاد DPPH، غلظت لازم برای غیرفعال کردن 50 درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاءکنندگی آهن سه ظرفیتی و مولفه‌های رنگی L (میزان روشنایی)، a (میزان قرمزی - سبزی) و b (میزان آبی - زردی)) آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از تجزیه و تحلیل آماری، دما و سرعت هوای بهینه خشک کردن گلبرگ زعفران با حفظ ویژگی‌های کمی به ترتیب 50 درجه سلسیوس و 1/4 متر بر ثانیه تعیین شد. در شرایط بهینه خشک کردن، میزان ترکیبات فنلی کل، میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل، قدرت گیرندگی رادیکال آزاد، قدرت احیاءکنندگی آهن سه ظرفیتی و میزان مولفه رنگی a (قرمزی - سبزی) به ترتیب 46/39 میلی گرم بر گرم، 1205/58 میلی گرم بر لیتر عصاره، 52/97 درصد و 1276/52 میکرومول آهن II بر لیتر و 11/13 به دست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی داری با نمونه شاهد داشت. خشک کردن گلبرگ در نقطه بهینه نتایج به دست آمده را تایید نمود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، ترکیبات فنلی، خشک کردن، خصوصیات آنتی اکسیدانی، گلبرگ زعفران.

مقدمه

مشخص شده است گلبرگ زعفران، دارای ترکیبات کاروتنوئیدی، کروسین، منوترپنی و فلاونوئیدی می باشد. ترکیبات کروسینی موجود در گلبرگ شامل: کروسین و مشتقات آن، پیکروکروسین، سیناپیک² اسید و مشتقات آن و ترکیبات فلاونوئیدی موجود شامل: کمپفرول و مشتقات آن، کوئرستین و مشتقات آن، تاماریکستین³ و مشتقات آن می باشند (Termentzi & Kokkalou, 2008; Montoro et al., 2012). گلبرگ زعفران حاوی مقادیر قابل ملاحظه ای رنگریزه از نوع آنتوسیانین است، به طوری که هر گرم آن حاوی 6/87 میلی گرم آنتوسیانین خالص می باشد، که در مقایسه با مقدار آنتوسیانین موجود در منابع گیاهی دیگر قابل ملاحظه است (Hemmati Khakhki et al., 2010).

همچنین، شواهد گوناگونی مبنی بر وجود ترکیباتی با اثرات دارویی نیز در گلبرگ زعفران وجود دارد. در تحقیقات متعدد ویژگی‌های آنتی اکسیدانی، ضد التهابی (Hosseinzadeh &

گلبرگ زعفران از محصولات جانبی به دست آمده در فرآیند تولید زعفران می باشد که پس از برداشت گل زعفران و جدا کردن کلاله و خامه به دست می آید. کاسبرگ‌ها و گلبرگ‌ها (گلپوش)، به رنگ بنفش هستند و حدوداً 86/4 درصد وزن مرطوب و حدود 96/36 درصد وزن خشک گل زعفران را تشکیل می دهند (Kazuma et al., 2003). طبق آمار سال 1394 از 95118/89 هکتار سطح زیر کشت این محصول، حدود 351692 کیلوگرم زعفران خشک و بالغ بر 12 هزار تن گلبرگ زعفران تازه به عنوان محصول جانبی تولید شده است (Anonymous, 2016). در حال حاضر، این محصول جانبی و با ارزش به دلیل غیر قابل استفاده بودن، دور ریخته می شود.

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

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

DOI: 10.22067/iftstr.v14i5.67570

² sinapic acid

³ tamarixetin

Younesi, 2002)، ضدافسردگی (Basti et al., 2007) و اثر بر فشار خون (Fatehi et al., 2003) عصاره گلبرگ زعفران مورد بررسی قرار گرفته است. گلبرگ زعفران حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی قوی مانند فلاونوئیدها می باشد که به صورت متصل به آلبومین، در سرم خون حمل گردیده و با این پروتئین اثرات متقابل دارد (Catoni et al., 2008).

بنابراین، گلبرگ زعفران می تواند به عنوان یکی از منابع با ارزش برای تولید افزودنی های طبیعی (ترکیبات آنتی اکسیدانی و رنگی) مطرح باشد. اما گلبرگ زعفران بعد از برداشت به دلیل دارا بودن مقادیر بالای رطوبت (حدود 87 درصد) و فعالیت متابولیکی بالا، سریع فاسد می شود (Mahdavee Khazaeia et al., 2014). بنابراین، یکی از راه های بهبود ماندگاری، کاهش ضایعات میکروبی و واکنش های شیمیایی در گلبرگ زعفران، کاهش رطوبت آن می باشد تا بتوان آن را تا هنگام استفاده با حفظ کیفیت نگهداری نمود (Maskan & Gogus, 1998). اما باید توجه داشت که شرایط و روش خشک کردن تاثیر به سزایی بر میزان ترکیبات حساس می گذارند. همچنین، نحوه و مدت زمان خشک کردن بر شرایط و بازده اقتصادی و میزان مصرف انرژی مورد نیاز برای خشک کردن نیز موثر است. بنابراین، مدل سازی سینتیک خشک کردن یکی از راه های مناسب برای کنترل زمان و شرایط خشک کردن می باشد (Sharifi et al., 2010). اغلب به منظور مدل سازی خشک کردن، از خشک کردن لایه نازک استفاده می شود. خشک کن لایه نازک به خشک کنی گفته می شود که ضخامت محصول و طول سینی آن، به حدی باشد که دما و رطوبت هوای خشک کن قبل و بعد از عبور از محصول یکسان باشد. سرعت، دما و رطوبت نسبی هوای مورد استفاده از عوامل مهم موثر بر فرآیند خشک کردن لایه نازک می باشند (Pabis et al., 1998).

از طرف دیگر، بالابردن قابلیت اجرایی و بازده سیستم ها در فرآیند خشک کردن بدون افزایش هزینه ها بسیار حائز اهمیت است. روش اجرایی که بدین منظور استفاده می گردد، بهینه سازی نامیده می شود و این عمل، یکی از مهمترین مراحل در طراحی و تحلیل سیستم ها است. روش سطح پاسخ¹ مجموعه ای از تکنیک های ریاضی و آماری است که جهت توسعه و بهینه کردن فرآیندهایی به کار می رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تاثیر قرار می گیرد و هدف، توصیف رابطه ای بین پاسخ و متغیرهای مستقل توسط مدل های ریاضی و بهینه سازی این پاسخ ها می باشد (Bas & Boyaci, 2007). ضرایب مدل با استفاده از روش رگرسیون چندگانه و حداقل مربع ها محاسبه می گردند (Rouissi et al., 2007). پس از به دست آوردن ضرایب رگرسیونی، پاسخ تخمین زده شده را می توان به سادگی با استفاده از رابطه مدل محاسبه کرد. برای ارزیابی کفایت

مدل، تکنیک ها مختلفی وجود دارند. تعدادی از این تکنیک ها شامل آنالیز خطا²، مقیاس بندی خطاها³، مجموع مربعات خطای پیش بینی⁴ و آزمون ضعف برازش⁵ می باشد (Rouissi et al., 2007). روش سطح پاسخ در تحقیقات متعددی برای بهینه سازی فرآیند خشک کردن محصولات غذایی مختلف استفاده شده است (Madamba, 2002; Uddin et al., 2004; Hammami et al., 1999; Giri & Prasad, 2007; Corzo et al., 2008; Koocheki & Azarpazhooh, 2009; Erbay & Icier, 2009). به عنوان مثال، روش سطح پاسخ برای بهینه سازی شرایط فرآیند خشک کردن برگ های زیتون به کار رفته است (Erbay & Icier, 2009). در این پژوهش، از تابع مطلوبیت به عنوان روش بهینه سازی استفاده شد. فاکتورهای بهینه سازی شامل دمای هوا (40 تا 60 درجه سلسیوس)، سرعت هوا (0/5 تا 1/5 متر بر ثانیه) و زمان فرآیند (240 تا 480 دقیقه) و پاسخ های مورد بررسی شامل میزان ترکیبات فنلی کل، میزان کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان رطوبت نهایی و بازده انرژی دسترس پذیر بود. شرایط بهینه برای خشک کردن برگ های زیتون، حداکثر میزان ترکیبات فنلی کل، فعالیت آنتی اکسیدانی و بازده انرژی دسترس پذیر برای رسیدن به میزان رطوبت نهایی زیر 10 درصد در نظر گرفته شد. شرایط بهینه برای رسیدن به اهداف در نظر گرفته شده فوق، دمای هوای 51/66 درجه سلسیوس، سرعت هوای 1/01 متر بر ثانیه و زمان فرآیند 298/68 دقیقه به دست آمد. میزان محتوای فنلی کل و درصد کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی و حداکثر بازده انرژی دسترس پذیر در شرایط بهینه به ترتیب 10/25 درصد، 41/88 درصد و 60 درصد حاصل شد.

اما طبق بررسی های انجام شده، در مورد خشک کردن لایه نازک گلبرگ زعفران و شرایط آن تاکنون تحقیقی در داخل و خارج از کشور انجام نشده است و یا در دسترس نیست. بنابراین با توجه به میزان تولید بالای گلبرگ زعفران به صورت ضایعات کشاورزی و حساسیت بالای ترکیبات موثر موجود در آن (مقادیر بالای ترکیبات آنتوسیانینی و پلی فنلی با فعالیت آنتی اکسیدانی بالا) در برابر شرایط خشک شدن و همچنین عدم انجام تحقیق مدون در این خصوص، پژوهش حاضر با هدف بررسی و بهینه یابی شرایط خشک کردن (دما و سرعت هوا) بر خصوصیات کمی و کیفی گلبرگ زعفران انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

به منظور تهیه گلبرگ زعفران، ابتدا گل زعفران به صورت غنچه و

² Residual analysis

³ Scaling residuals

⁴ Prediction error sum of squares (PRESS)

⁵ Lack of fit

¹ RSM: Response Surface Method

رابطه 1 محاسبه شد (Aghbashlo *et al.*, 2009).

$$MR = \frac{M_d - M_e}{M_0 - M_e} \quad (1)$$

در این رابطه، MR نسبت رطوبت، M_d رطوبت نمونه در لحظه جاری بر پایه وزن خشک، M_e رطوبت تعادلی نمونه بر پایه وزن خشک و M_0 رطوبت اولیه نمونه بر پایه وزن خشک می‌باشد. بر اساس تحقیقات انجام شده، از آنجایی که در محصولات با رطوبت بالا، مقادیر رطوبت تعادلی در مقابل رطوبت نمونه در لحظه جاری و رطوبت اولیه بسیار ناچیز است؛ می‌توان رابطه فوق را به شکل رابطه 2، ساده‌سازی کرد (Doymaz & Pala, 2002; Aghbashlo *et al.*, 2008):

$$M_R = \frac{M_d}{M_0} \quad (2)$$

استخراج عصاره از گلبزرگ خشک شده

بدین منظور ابتدا گلبزرگ‌های خشک شده با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی (All basic Analytical mill, IKA, آلمان) پودر شدند و اندازه ذرات آن با استفاده از الک با مش 50 میکرومتر تنظیم شد. سپس، استخراج عصاره از گلبزرگ زعفران به‌منظور ارزیابی میزان ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش غرقابی و به کمک حلال متانول (Farhoosh, 2006) و به‌منظور ارزیابی میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل با استفاده از روش غرقابی و حلال اتانول اسیدی (مخلوط اتانول 96 درصد و اسیدکلریدریک 1/5 نرمال با نسبت 85 به 15 سی‌سی)، (Mahdavee Khazaeia *et al.*, 2014) انجام پذیرفت. عصاره‌های حاصل تا زمان انجام آزمون‌ها در ظروف شیشه‌ای تیره رنگ در یخچال نگهداری شدند.

تعیین ترکیبات فنلی کل

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل به‌روش فولین سیوکالچو انجام گرفت. بدین منظور ابتدا به 100 میکرولیتر از عصاره، 2/5 میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالچو (برای تهیه معرف، محلول فولین سیوکالچو به نسبت 1 به 10 با آب مقطر رقیق می‌شود) اضافه کرده و پس از اختلاط به مدت 3 دقیقه در حالت سکون قرار داده شد تا واکنش صورت گیرد. در ادامه 5 میلی‌لیتر کربنات سدیم 7/5 درصد به آن اضافه و بعد از یک دقیقه با آب مقطر به حجم 50 میلی‌لیتر رسانده شد. نمونه به مدت 24 ساعت در مکانی تاریک نگهداری و سپس جذب آن در طول موج 765 نانومتر در برابر شاهد قرائت شد. میزان ترکیبات فنولی کل موجود در نمونه از روی منحنی استاندارد تعیین شد. منحنی استاندارد با ترسیم داده‌های جذب اسید گالیک در طول موج 765 نانومتر در غلظت‌های 100 تا 950 پی‌پی‌ام به‌دست آمد. نتایج بر اساس میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم گلبزرگ خشک با استفاده از معادله برازش داده شده بر منحنی استاندارد گزارش گردید (2011, Ling & Huang).

در اوایل صبح از مزارع کشت زعفران در مرکز تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی و همچنین مزارع موجود در نزدیکی مشهد برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید. گلبزرگ‌ها، بعد از جداسازی کلاله از گل و همچنین حذف بخش‌های اضافی (پرچم و دمگل از گلپوش) تهیه و رطوبت آنها تعیین شد و سپس به دستگاه خشک‌کن منتقل گردیدند. معرف فولین سیوکالچو، 2 و 4-6 تری (2-پیریدیل)-اس - تریازین (TPTZ)، 1 و 1 دی فنیل - 2 - پیکریل هیدرازین (DPPH)²، متانول، سولفات آهن II، کلرید آهن III شش‌آبه، استات سدیم سه آبه، پتاسیم کلراید، اسیدکلریدریک غلیظ و دیگر مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت‌های مرک، سیگما - آلدريج، شارلو و کالدون با درجه تجزیه‌ای³ خریداری شدند.

فرآیند خشک کردن

آزمایش تجربی خشک کردن در 3 سطح دمای هوای خشک‌کننده 40، 50 و 60 درجه سلسیوس و سه سرعت هوای 0/7، 1/4 و 2/1 متر بر ثانیه (با توجه به آزمون‌های اولیه و بررسی منابع)، با استفاده از خشک‌کن لایه نازک آزمایشگاهی انجام شد (شکل 1). حدود نیم ساعت قبل از شروع فرآیند خشک کردن، دستگاه خشک‌کن روشن و دمای آن متناسب با دمای مورد نیاز تنظیم شد تا دمای هوای داخل خشک‌کن به حالت پایدار برسد. سپس 15 گرم گلبزرگ زعفران بر روی 3 سینی خشک‌کن به‌طور یکنواخت و یک لایه قرار داده شد و کاهش وزن آن‌ها در فواصل زمانی تعیین شده (هر 2 دقیقه یکبار)، اندازه‌گیری و ثبت شد. خشک کردن نمونه‌ها تا رسیدن به محتوی رطوبت ثابت انجام شد. برای خشک کردن نمونه شاهد نیز 15 گرم گلبزرگ زعفران بر روی سینی توری دار، به‌طور یکنواخت و تک لایه قرار داده شد و کاهش وزن آن‌ها در فواصل زمانی تعیین شده (هر 2 دقیقه یکبار)، اندازه‌گیری و ثبت شد. خشک کردن نمونه‌ها تا رسیدن به محتوی رطوبت تقریباً ثابت انجام شد.

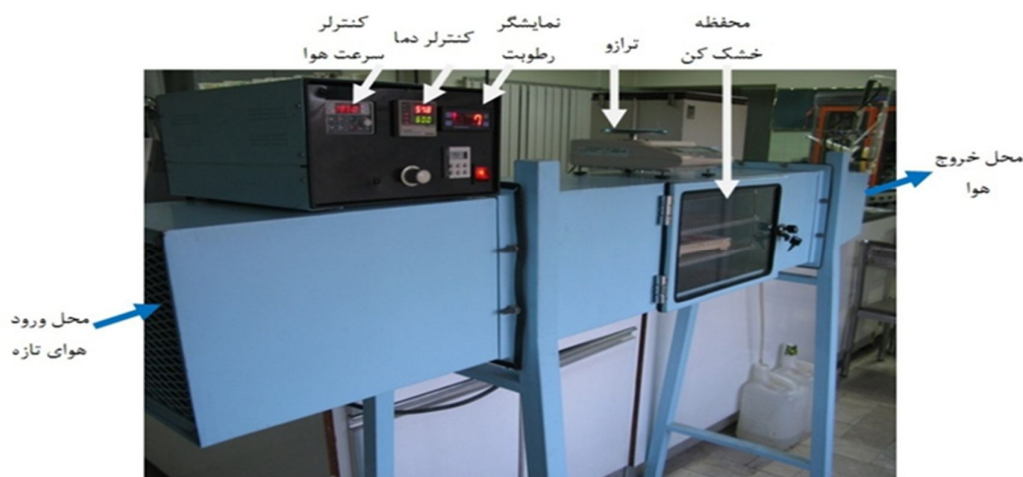
تعیین مقدار رطوبت

مقدار رطوبت نمونه‌های خشک شده با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج مادون قرمز (MX-50, Japan) در دمای 105 ± 1 درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شد (Kaushik & Roos, 2007). نسبت رطوبت با توجه به رطوبت اولیه، رطوبت تعادلی و رطوبت توده محصول در هر لحظه طی خشک شدن به‌وسیله

¹ TPTZ :2,4,6-Tri (2-pyridyl)-S-triazine

² DPPH :2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl

³ Analytical grade



شکل 1- خشک کن لایه نازک آزمایشگاهی

لوله آزمایش مخلوط شدند. لوله آزمایش بعد از ورتکس در بن‌ماری قرار گرفت و پس از رسیدن دمای آن به 37 درجه سلسیوس، مقدار جذب در مقابل شاهد و در طول موج 595 نانومتر خوانده شد. از محلول سولفات آهن هفت آبه ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) جهت ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد.

تعیین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH طبق روش Singer و همکاران (2007) انجام شد. بدین منظور ابتدا، محلول 0/006 درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه شد. سپس به لوله‌های آزمایش حامل یک میلی‌لیتر محلول متانولی نمونه با غلظت‌های مختلف (بسته به قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد)، یک میلی‌لیتر از محلول فوق اضافه شد. لوله‌های آزمایش بعد از ورتکس شدن به مدت یک ساعت در جای تاریک نگهداری شدند و سپس جذب آنها در طول موج 512 نانومتر در برابر شاهد قرائت گردید. درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد طبق رابطه 5 محاسبه شد.

$$A\% = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \quad (5)$$

که در آن: A درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، A_c جذب شاهد و A_s جذب نمونه است. پس از ترسیم نمودار درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد در برابر غلظت ترکیب آنتی‌اکسیدانی، منحنی مناسب روی داده‌ها برازش داده شد و سپس غلظتی را که در آن، ترکیب آنتی‌اکسیدانی قادر به مهار کردن 50 درصد رادیکال‌های آزاد است تحت عنوان IC_{50} محاسبه گردید.

اندازه‌گیری مولفه‌های رنگی

تعیین مقدار ترکیبات آنتوسیانینی کل

مقدار آنتوسیانین‌های کل بر اساس روش pH افتراقی و بر حسب سیانیدین 3-گلیکوزید محاسبه گردید (Giusti & Wrolstad, 2001). بدین منظور رقیق‌سازی عصاره‌ها در بافرهای با pH مساوی 4/5 و 1 انجام و میزان جذب آن‌ها در طول موج‌های 517 و 700 نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر (Pharmacia, Novaspec ii, England) خوانده شد. طبق رابطه 3، میزان جذب عصاره و طبق رابطه 4، میزان آنتوسیانین کل محاسبه گردید.

$$A = (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{\lambda 700})^{pH=1} - (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{\lambda 700})^{pH=4.5} \quad (3)$$

$$\text{مقدار آنتوسیانین کل} = A \times Mw \times DF \times 1000 / (\epsilon \times L) \quad (4)$$

در رابطه‌های 3 و 4: A: اختلاف جذب بین دو pH مساوی 4/5 و 1، M_w : جرم مولکولی سیانیدین 3-گلیکوزید (484/8 گرم بر مول)، ϵ : جذب مولی سیانیدین 3-گلیکوزید (34300)، DF: فاکتور رقت و L: قطر سل اسپکتروفتومتر بر حسب سانتی‌متر می‌باشد.

تعیین قدرت احیا کنندگی آهن $FRAP^{1}$

آزمون قدرت آنتی‌اکسیدانی / احیاء کنندگی آهن طبق روش Strain و Benzie (1996) انجام شد. واکنشگر FRAP از مخلوط بافر استات، معرف TPTZ و محلول 20 میلی‌مولار کلرید آهن III شش آبه را به نسبت 1:1:10 حجمی با هم تهیه شد و 2700 میکرولیتر از آن با 90 میکرولیتر عصاره و 270 میکرولیتر آب مقطر در

¹ FRAP: Ferric reducing activity of plasma

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 + \sum_{i=1}^{j-1} \sum_{j=2}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (6)$$

که در این رابطه، Y : پاسخ پیش‌بینی شده، β_0 : یک ثابت؛ β_i : ضرایب خطی؛ β_{jj} : ضرایب درجه دو؛ β_{ij} : ضرایب متقابل؛ X_i و X_j : متغیرهای مستقل؛ و ε : خطا می‌باشد (Azarpazhooh & Ramaswamy, 2012). برای بررسی ارتباط بین متغیرهای مستقل و وابسته از نمودار سه‌بعدی سطح پاسخ رسم شده توسط مدل استفاده شد.

جدول 1- نمادها، مقادیر کد شده و مقادیر واقعی متغیرهای مستقل

نماد	متغیرهای مستقل	سطح کد شده
A	دمای هوای خشک‌کن	0 و 1- (40، 50 و 60 درجه سلسیوس)
B	سرعت هوای خشک‌کن	0 و 1- (به 0/7، 1/4 و 2/1 متر بر ثانیه)

نتایج و بحث

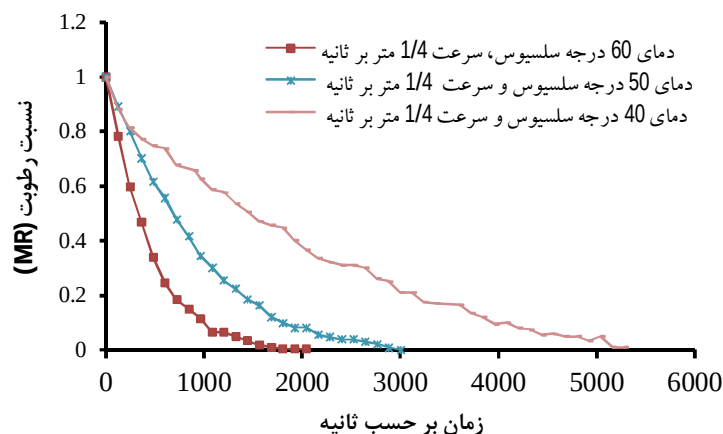
تاثیر دما و سرعت هوای خشک‌کن بر مدت زمان و آهنگ خشک شدن

میزان نسبت رطوبت (MR) گلبرگ زعفران طی فرآیند خشک کردن در دماهای مختلف و سرعت هوای 1/4 متر بر ثانیه در شکل 2 نشان داده شده است. میزان رطوبت نمونه‌ها با افزایش زمان خشک کردن به صورت نمایی تا رسیدن به رطوبت ثابت کاهش یافت (ضریب تبیین بیش از 0/93). در ساعات اولیه خشک شدن، کاهش رطوبت سریع‌تر است (Yaldiz et al., 2001)؛ اما در ساعات بعدی به سبب این که رطوبت باید از قسمت‌های داخلی ماده به سطح بیرونی رسیده و سپس تبخیر گردد، کاهش رطوبت کندتر انجام می‌شود. روند کاهشی مشابهی در مورد میزان نسبت رطوبت تعادلی گلبرگ زعفران خشک شده در دماهای مختلف و سرعت‌های هوای 1/4 و 2/1 متر بر ثانیه نیز مشاهده شد.

آنالیز رنگ گلبرگ زعفران خشک شده در فاصله زمانی 2 ساعت پس از خشک شدن از طریق تعیین سه مولفه میزان روشنایی (L)، میزان قرمزی - سبزی (a) و میزان زردی - آبی (b) انجام پذیرفت. جهت اندازه‌گیری این شاخص‌ها ابتدا تصاویر به وسیله اسکنر (HP Scanjet G3010) گرفته شد. به منظور جلوگیری از ورود هرگونه نور جانبی، سطح اسکنر با پارچه کاملاً سیاه و ضخیم پوشانیده شد. تصاویر با وضوح 300 dpi و فرمت JPEG ذخیره گردیدند. پس از انتقال تصاویر به رایانه، مختصات رنگی آن‌ها در فضای رنگی Lab با نرم‌افزار Image J (version 1.40g) استخراج شد (Sun, 2008).

بهینه‌سازی فرآیند خشک کردن با هوای داغ بر ویژگی‌های کمی و کیفی گلبرگ خشک شده زعفران

به منظور بهینه‌سازی فرآیند خشک کردن با هوای داغ بر اساس ویژگی‌های کمی و کیفی گلبرگ خشک شده زعفران از نرم‌افزار Design Expert نسخه 8/01 استفاده شد. بدین منظور از طرح مرکب مرکزی با نقاط مرکزی در هر وجه و 5 نقطه مرکزی برای بررسی تاثیر دو متغیر مستقل دمای خشک‌کن (40، 50 و 60 درجه سلسیوس) و سرعت هوا (0/7، 1/4 و 2/1 متر بر ثانیه) بر متغیرهای وابسته کمی و کیفی (میزان ترکیبات فنلی کل، میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل، قدرت گیرندگی رادیکال آزاد DPPH، IC₅₀، قدرت احیاءکنندگی آهن سه ظرفیتی، مولفه‌های رنگی L، a و b مورد استفاده قرار گرفت. کلیه آزمایشات در 3 تکرار انجام گرفت. سطوح کد شده و واقعی هر کدام از متغیرها در جدول 1 آورده شده است. آثار مستقل و متقابل متغیرها بر روی پاسخ‌ها با استفاده از معادله ریاضی درجه دوم کامل زیر و آنالیز رگرسیون گام به گام پس رونده بیان شد:



شکل 2- تغییرات نسبت رطوبت گلبرگ زعفران طی مدت زمان خشک شدن در دماهای متفاوت و سرعت هوای 1/4 متر بر ثانیه

تغییر می‌کند (Sun & Woods, 1994; Yadollahinia et al., 2006).

بررسی تاثیر متغیرها (مستقل و متقابل) بر مولفه‌های رنگی گلبرگ زعفران خشک شده

به منظور به دست آوردن مدل تجربی برای پیش‌بینی مولفه‌های رنگی L ، a و b ابتدا رابطه‌های چند جمله‌ای شامل خطی، دو فاکتوری (تعاملی)، درجه 2 و درجه 3 بر داده‌های به دست آمده از این پاسخ‌ها برازش داده شدند و سپس این مدل‌ها مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. لازم به ذکر است از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون ضعف برازش آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده باشد. همچنین از این مدل برای ارزیابی میزان تاثیرات خطی، تعاملی، درجه 2 و درجه 3 متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته استفاده شد. نتایج نشان داد مدل مناسب برای پیشگویی تغییرات مولفه‌های رنگی L و a در اثر متغیرهای مورد بررسی (دما و سرعت هوای خشک‌کن) مدل درجه دو و برای مولفه رنگی b مدل خطی می‌باشد. ضرایب معادلات مدل‌های به دست آمده و تجزیه واریانس آن‌ها در جدول 2 نشان داده شده است.

همانطور که از شکل 2 مشاهده می‌شود، دمای هوای خشک‌کن تاثیر معنی‌داری بر مدت زمان خشک‌شدن داشت ($P < 0/05$). به طوری که زمان لازم جهت خشک‌شدن گلبرگ زعفران با افزایش دمای هوای خشک‌کردن از 40 به 60 درجه سلسیوس، کاهش یافت. در دمای 60 درجه سلسیوس در زمان‌های بین 1000 تا 2000 ثانیه (15 تا 28 دقیقه)، برای دمای 50 درجه سلسیوس در زمان بین 2000 تا 3000 ثانیه (34 تا 44 دقیقه)، و برای دمای 40 درجه سلسیوس در زمان بین 4000 تا 5000 ثانیه (77 تا 92 دقیقه)، فرآیند به پایان رسید. این پدیده احتمالاً به دلیل افزایش انرژی آب موجود در گلبرگ زعفران و یا افزایش پتانسیل انتقال حرارت بین هوا و گلبرگ می‌باشد که گرمای نهان تبخیر لازم برای تبخیر آب از گلبرگ را تامین می‌کند و در نتیجه باعث خروج بیشتر آب و در نتیجه کاهش میزان رطوبت می‌شود. نتایج مشابهی توسط سایر محققان بر روی سبزیجات مختلف گزارش شده است (Mwithiga et al., 2005; Katsube et al., 2009). همچنین، از شکل 1 مشاهده می‌شود با افزایش سرعت هوا از 0/7 تا 2/1 متر بر ثانیه، مدت زمان خشک‌شدن کاهش یافت. میزان افت رطوبت و مدت زمان خشک‌شدن در مواد غذایی مختلف به عوامل متعددی مانند دما، رطوبت اولیه محصول، سرعت هوا و غیره وابسته است و با تغییر شرایط فرآیند میزان و سنتیک افت رطوبت نیز

جدول 2- تجزیه واریانس و ضرایب معادلات مدل‌های به دست آمده بر متغیرهای پاسخ (مولفه‌های رنگی a ، L و b)

منبع	درجه آزادی	مولفه رنگی L (میزان روشنائی)	مولفه رنگی a (میزان قرمزی - سبزی)	مولفه رنگی b (میزان زردی - آبی)
		میانگین مربعات	ضریب معادله	میانگین مربعات
مدل	5	44/21**	11/13	26/28*
A	1	ns	0/87	ns
B	1	ns	0/26	26/28*
AB	1	ns	-1/35	ns
A ²	1	131/02**	-1/74	ns
B ²	1	ns	ns	ns
مانده ها	7	11/00	1/00	4/14
ضعف برازش	3	ns	1/50	5/24
خطای خالص	4	6/59	0/51	2/21
کل	12			
آنالیز آماری مدل پیشنهادی				
انحراف معیار	3/31	1/00	2/03	
میانگین	41/28	10/32	-8/08	
CV%	8/03	9/70	25/16	
ضریب تبیین	0/74	0/73	0/36	
ضریب تبیین برازش شده	0/56	0/60	0/31	
ضریب تبیین پیش بینی شده	-0/28	-0/35	0/12	

** اختلاف معنی‌دار در سطح 1 درصد، * اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد، ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

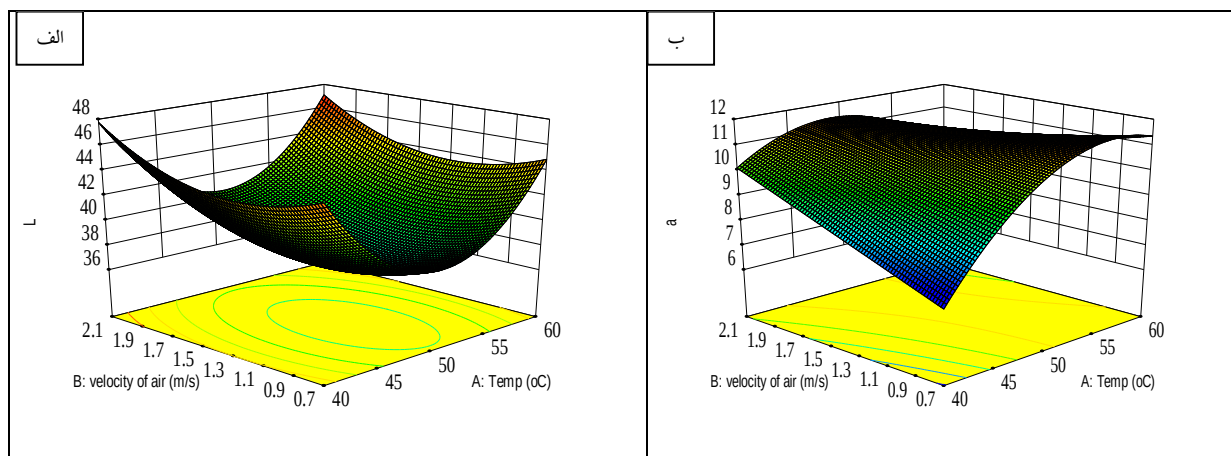
میزان روشنایی گلبرگ زعفران خشک‌شده با افزایش دما از 50 به 60 درجه سلسیوس، احتمالاً به دلیل تخریب رنگدانه‌ها و سایر ترکیبات موثر بر رنگ (مانند ویتامین‌ها، کربوهیدرات‌ها، آمینواسیدها و...) می‌باشد (Miranda et al., 2009).

تأثیر دمای هوای خشک‌کن بر میزان سبزی - قرمزی (مولفه رنگی a) گلبرگ خشک‌شده، بر خلاف تغییرات میزان روشنایی بود؛ به‌طوری‌که با افزایش دما از 40 به 50 درجه سلسیوس، این شاخص تا حدودی افزایش و پس از آن نسبتاً ثابت باقی ماند، (شکل 3، ب). سرعت هوای خشک‌کن هرچند تأثیر معنی‌داری بر این مولفه رنگی نداشت، اما با افزایش سرعت هوا، مقدار این مولفه رنگی بیشتر شد. رنگ قرمز همراه با آبی و بنفش موجود در گلبرگ زعفران، به دلیل وجود آنتوسیانین‌ها می‌باشد (همتی کاخکی، 2010). افزایش مقدار این ترکیبات با افزایش دما و سرعت هوا، احتمالاً به دلیل تبخیر بیشتر رطوبت و افزایش غلظت ترکیبات موجود می‌باشد.

مولفه رنگی b، نشان‌دهنده محدوده رنگی زرد تا آبی می‌باشد. میزان آبی - زرد بودن گلبرگ زعفران با افزایش سرعت هوا از 0/7 به 1/4 متر بر ثانیه، افزایش یافت؛ در حالی‌که، دمای هوای خشک‌کن، تأثیر معنی‌داری بر این مولفه رنگی نداشت.

با توجه به جدول تجزیه واریانس اثر مجذور دمای هوای خشک‌کن بر مولفه رنگی L (میزان روشنایی)؛ اثر مستقل دمای خشک‌کن و اثر متقابل دما و سرعت هوای خشک‌کن بر مولفه رنگی a (میزان قرمزی - سبزی) و اثر مستقل سرعت هوای خشک‌کن بر مولفه رنگی b معنی‌دار بود ($P < 0/05$).

در محصولات خشک شده توجه به رنگ از اهمیت زیادی برخوردار است و جلوگیری از تغییر رنگ زیاد و یا سوختگی محصول بسیار قابل توجه می‌باشد. همانطور که از شکل 3- الف مشاهده می‌شود، مولفه رنگی L که نشان‌دهنده میزان روشنایی گلبرگ زعفران خشک شده است، با افزایش دما و سرعت هوای خشک‌کن تا حدی کاهش و پس از آن افزایش یافت. کاهش میزان روشنایی گلبرگ خشک‌شده با افزایش دما، احتمالاً به دلیل افزایش سرعت انجام واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی و غیرآنزیمی (میلارد) می‌باشد. به‌طور کلی، واکنش میلارد در تمام مواد غذایی حرارت دیده که دارای مقدار کافی از ترکیبات اولیه انجام این واکنش باشند (قندهای احیاء‌کننده و اسیدآمین)، می‌تواند انجام شود (فاطمی، 1378). سرعت انجام این واکنش با افزایش دما، افزایش می‌یابد (Acevedo et al., 2008; Manzocco et al., 2001). اما افزایش



شکل 3- نمودار سطح پاسخ تأثیر دما و سرعت هوای خشک‌کن بر (الف) مولفه رنگی L (میزان روشنایی) و (ب) مولفه رنگی a (میزان قرمزی - سبزی) گلبرگ خشک‌شده

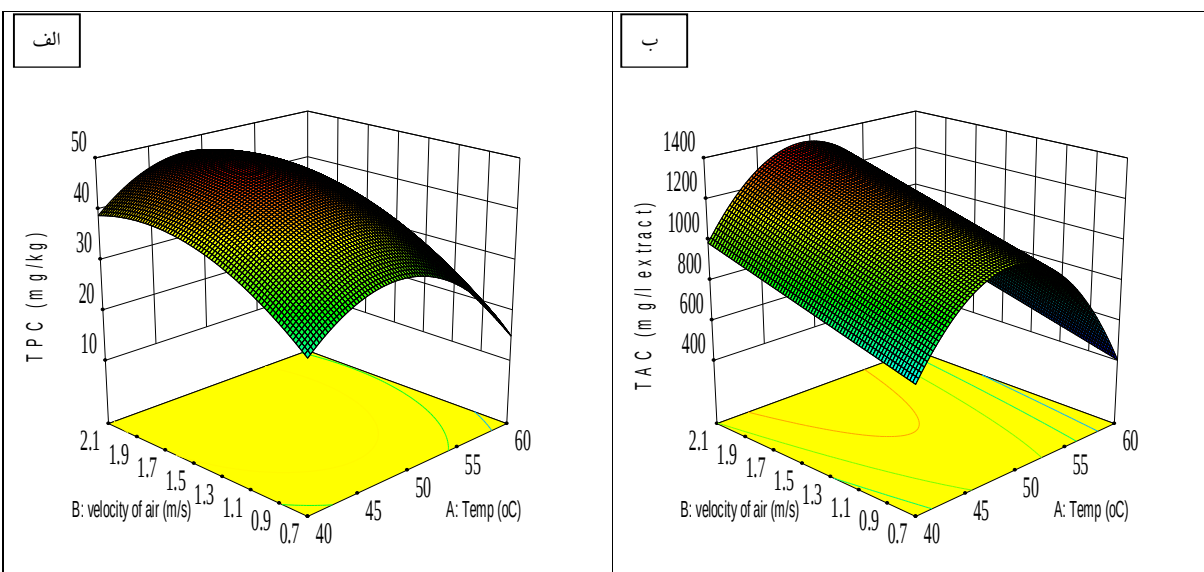
برازش داده شدند. نتایج نشان داد مدل مناسب برای پیشگویی این پاسخ‌ها در اثر متغیرهای مورد بررسی (دما و سرعت هوای خشک‌کن) مدل درجه دو می‌باشد. ضرایب معادلات مدل‌های به‌دست آمده و آنالیز واریانس آنها در جدول 4 نشان داده شده است. با توجه به جدول تجزیه واریانس اثر مستقل دما و سرعت هوای خشک‌کن و اثر مجذور آنها بر میزان ترکیبات فنلی کل، اثر مستقل دما و سرعت هوای خشک‌کن و اثر مجذور دمای هوای خشک‌کن بر میزان ترکیبات

بررسی تأثیر متغیرها (مستقل و متقابل) بروی‌گی‌های کیفی و آنتی‌اکسیدانی گلبرگ زعفران خشک شده

به‌منظور به‌دست آوردن مدل تجربی برای پیش‌بینی پاسخ‌های میزان ترکیبات فنلی کل، میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل، قدرت احیاء‌کنندگی آهن سه ظرفیتی و قدرت گیرندگی رادیکال آزاد DPPH و IC_{50} نیز رابطه‌های چندجمله‌ای شامل خطی، دو فاکتوریلی (تعاملی)، درجه 2 و درجه 3 بر داده‌های به‌دست آمده از این پاسخ‌ها

از 40 به 50 درجه سلسیوس، افزایش و پس از آن به شدت کاهش یافتند (شکل 4 الف و ب)، اما با افزایش سرعت هوای خشک‌کن، میزان این پاسخ‌ها افزایش یافتند. عواملی مانند روش خشک‌کردن (نوع خشک‌کن، دما و سرعت هوا و ...)، نوع حلال مورد استفاده برای استخراج بر میزان ترکیبات پلی‌فنلی کل و خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در محصولات خشک‌شده، تاثیر می‌گذارد (Manzocco *et al.*, 2001; Que *et al.*, 2008).

آنتوسیانینی کل، اثر مستقل دما و سرعت هوای خشک‌کن و اثر مجذور آن‌ها بر میزان گیرندگی رادیکال آزاد DPPH، اثر متقابل و مجذور دما و سرعت هوای خشک‌کن بر IC_{50} ، و اثر مستقل دما و سرعت هوای خشک‌کن و اثر مجذور دمای هوای خشک‌کن بر قدرت احیاء‌کنندگی آهن معنی‌دار بودند ($P < 0/05$ و یا $P < 0/01$). حفظ کیفیت محصولات پس از فرآیند خشک‌شدن، بسیار با اهمیت می‌باشد. میزان ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی کل با افزایش دما



شکل 4- نمودار سطح پاسخ تاثیر دما و سرعت هوای خشک‌کن بر میزان ترکیبات پلی‌فنلی کل (TPC) و بر میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل (TAC) گلبرگ خشک‌شده

پلی‌فنل‌ها هستند (Fransis, 1989). بنابراین دور از انتظار نیست که رفتارهای مشابه با تغییرات ترکیبات پلی‌فنلی کل در اثر دما و سرعت هوای خشک‌کن داشته باشند. افزایش دما، سبب پلیمری شدن و تبدیل آنتوسیانین‌های مونومری به رنگدانه‌های پلیمری قهوه‌ای یا بی‌رنگ می‌شود؛ بنابراین، در اندازه‌گیری به روش pH افتراقی، در مقابل تغییرات pH، تغییر رنگ نشان نمی‌دهند (Giusti & Wrolstad, 2003).

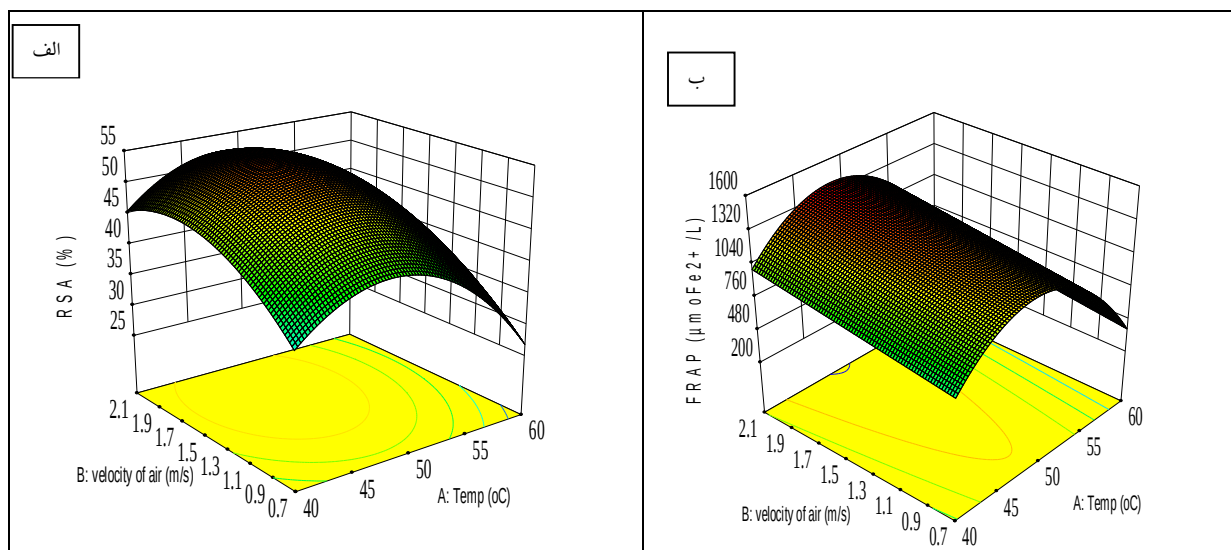
خواص آنتی‌اکسیدانی گلبرگ خشک‌شده به استثنای IC_{50} ، با افزایش دما از 40 به 50 درجه سلسیوس، افزایش و پس از آن به شدت کاهش یافتند (شکل 5، الف و ب).

در مواد غذایی خشک‌شده، بین ترکیبات پلی‌فنلی و آنتوسیانینی با خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها رابطه مستقیمی مشاهده شده است (Piga *et al.*, 2003; Deepa *et al.*, 2007; Wojdylo *et al.*, 2014). قدرت آنتی‌اکسیدان‌ها به روش‌های مختلفی اندازه‌گیری می‌شود. بررسی فعالیت به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH یکی از روش‌های تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

Katsube و همکاران (2009) تاثیر دمای هوای خشک‌کن را بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی توت سفید بررسی و گزارش نمودند که خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات پلی‌فنلی کل برگ‌های خشک شده در دمای 60 بیشتر از 40 درجه سلسیوس بود و علت را به کاهش مدت زمان خشک‌شدن از 45 ساعت به 7 ساعت در اثر افزایش دما، نسبت دادند. اما افزایش دما به بالاتر از 70 درجه سلسیوس باعث کاهش میزان ترکیبات پلی‌فنلی کل و کاهش قدرت گیرندگی رادیکال آزاد DPPH شد. نتایج مشابهی توسط سایر محققین گزارش شده است (Larrauri *et al.*, 1997; Garau *et al.*, 2007; Vega-Galvez, 2009; Zaiton *et al.*, 2009). گزارش شده است. بنابراین، علت افزایش ترکیبات پلی‌فنلی از دمای 40 به 50 درجه سلسیوس در پژوهش حاضر، نیز احتمالاً به دلیل کاهش مدت زمان خشک‌شدن است.

آنتوسیانین‌ها گروهی از رنگدانه‌های متعلق به گروه فلاونوئیدها از

¹ Mulberry (*Marus alba* L.)



شکل 5- نمودار سطح پاسخ تاثیر دما و سرعت هوای خشک‌کن بر (الف) قدرت گیرندگی رادیکال آزاد (RSA) و بر قدرت احیاء‌کنندگی آهن سه ظرفیتی (FRAP) گلبرگ خشک‌شده

می‌شوند (Wojdylo *et al.*, 2014; Piga *et al.*, 2003; EliZalde *et al.*, 1992; Severini *et al.*, 1995; Yen & Hsieh, 1995). استفاده از دماهای بالاتر باعث تخریب آنتوسیانین‌ها و ترکیبات پلی فنلی خواهد شد (Katsube *et al.*, 2009; Piga *et al.*, 2003). در پژوهش حاضر نیز با افزایش بیشتر دما، میزان این ترکیبات و به تبع آن‌ها خواص آنتی‌اکسیدانی کاهش یافت. با توجه به نتایج به‌دست آمده و پژوهش‌های سایر محققین بین محتوی ترکیبات فنلی و آنتوسیانین کل با میزان شاخص IC_{50} همبستگی منفی مشاهده می‌شود به‌طوری که با کاهش میزان این ترکیبات میزان شاخص IC_{50} افزایش می‌یابد (Sanchez *et al.*, 2006; Vega Galvez *et al.*, 2009).

بهینه‌یابی فرایند خشک کردن لایه نازک گلبرگ زعفران

شرایط بهینه خشک کردن گلبرگ زعفران با استفاده از خشک‌کن لایه نازک بر پاسخ‌ها از طریق بهینه‌یابی عددی و نموداری نرم‌افزار تعیین شد. بیشینه نمودن راندمان استخراج ترکیبات پلی‌فنلی، میزان ترکیبات فنلی کل، میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل، قدرت احیاء‌کنندگی آهن سه ظرفیتی و قدرت گیرندگی رادیکال آزاد DPPH، کمینه نمودن IC_{50} و در محدوده بودن مولفه‌های رنگی به‌عنوان اهداف مورد نظر آزمایشات در تجزیه و تحلیل‌های آماری مورد نظر قرار گرفت. دما و سرعت هوای خشک‌کن در شرایط فرایند بهینه با استفاده از تابع مطلوبیت، به‌ترتیب 50 درجه سلسیوس و سرعت هوای 1/4 متر بر ثانیه حاصل شد برای اطمینان از صحت

در این روش رنگ ارغوانی رادیکال‌های آزاد DPPH در اثر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره خنثی شده و بی‌رنگ می‌گردد. لذا درجه بی‌رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام اندازی رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود می‌باشد (Nogala-Kalucka *et al.*, 2005). IC_{50} غلظت لازم برای غیرفعال کردن 50 درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط می‌باشد. لازم به ذکر است که میزان IC_{50} با افزایش قدرت مهارکنندگی، کاهش می‌یابد. تعیین قدرت احیاء‌کنندگی آهن، روشی سریع و مناسب برای اندازه‌گیری قدرت احیاء‌کنندگی ترکیبات شیمیایی است و می‌توان آن را به‌عنوان شاخصی از قدرت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها مورد استفاده قرار داد. در این روش توانایی عصاره‌ها برای احیاء آهن 3 ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. حضور عوامل احیاءکننده (آنتی‌اکسیدان‌ها) منجر به احیاء کمپلکس‌های فری‌سیانید و تبدیل آن‌ها به فرم آهن دوظرفیتی و سه‌ظرفیتی می‌گردد که بسته به ظرفیت احیاء‌کنندگی عصاره‌های مورد بررسی با تغییر رنگ از زرد به درجات مختلفی از رنگ سبز و آبی همراه است.

همانطور که قبلاً نیز گفته شد خواص آنتی‌اکسیدانی گلبرگ زعفران خشک شده از دمای 40 به 50 درجه سلسیوس، افزایش یافت. این پدیده احتمالاً می‌تواند به دلیل افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات پلی‌فنلی در مراحل میانی اکسایش نسبت به مراحل اولیه اکسایش (Cheigh *et al.*, 1995) و یا تولید و تجمع ملانوتین‌های حاصل از واکنش قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی میلارد در درجه حرارت‌های بالاتر باشد که باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی

شرایط، آزمایش در شرایط بهینه تکرار گردید و پاسخ‌های به‌دست آمده در جدول 5 نشان داده شد. نتایج نشان داد خصوصیات کمی و کیفی گلبرگ خشک‌شده در شرایط بهینه، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری

جدول 5- مقایسه نتایج حاصل از آزمون بهینه و نتایج آماری

پاسخ	نتایج روش سطح پاسخ	نتایج آزمایش	شاهد
مولفه رنگی L (روشنایی)	36/99	37/03±1/8	43/67
مولفه رنگی a (قرمزی - سبزی)	11/12	11/46±0/85	6/79
مولفه رنگی b (آبی - زردی)	-8/09	-8/00±0/2	-5/49
ترکیبات فنلی کل (میلی گرم بر گرم)	46/39	45/40±1/23	33/90
ترکیبات آنتوسیانینی کل (میل گرم بر لیتر عصاره)	1205/58	1200/12±10/45	920/39
قدرت گیرندگی رادیکال آزاد (درصد)	52/97	53/00±1/04	43/41
IC ₅₀ (میلی گرم بر میلی لیتر)	0/45	0/45±0/01	1/08
قدرت احیاء کنندگی آهن سه‌ظرفیتی (میکرومول آهن II بر لیتر)	1276/51	1277/38±11/81	1056/14

نتیجه‌گیری

خشک کردن گلبرگ زعفران به‌منظور استفاده مطلوب از آن به‌عنوان یک منبع تهیه افزودنی‌های طبیعی (ترکیبات رنگی و آنتی‌اکسیدانی) در صنایع غذایی و دارویی، ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین در پژوهش حاضر، عوامل موثر بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی گلبرگ زعفران طی فرآیند خشک کردن لایه نازک با استفاده از نرم‌افزار سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی محوری با دو متغیر مستقل (دما و سرعت هوای خشک‌کن) مورد بررسی قرار گرفت، تا در صورت

لزوم در طراحی خشک‌کن مناسب استفاده شود. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن بودند که مدل‌های ارائه شده با روش سطح پاسخ، کارایی مناسبی برای پیش‌بینی، بهینه‌بازی و اصلاح پارامترهای مورد ارزیابی در شرایط خشک کردن را داشتند. دما و سرعت هوای خشک‌کن لایه نازک، به‌ترتیب 50 درجه سلسیوس و سرعت هوای 1/4 متر بر ثانیه با میزان مطلوبیت 0/89 به‌عنوان بیشترین مطلوبیت ممکن انتخاب شد. حفظ خصوصیات فیزیکوشیمیایی گلبرگ زعفران در نقطه بهینه فرآیند خشک کردن به میزان قابل توجهی بیشتر از نمونه شاهد بود.

منابع

- Acevedo, N., Schebor, C., & Buera, P. 2008. Non-enzymatic browning kinetics analyzed through water-solids interactions and water mobility in dehydrated potato. *Food Chemistry*, 108: 900-906.
- Aghbashlo, M., Kianmehr, M.H., Samimi-Akhijahani, H. 2008. Influence of drying conditions on the effective moisture diffusivity, energy of activation and energy consumption during the thinlayer drying of berberis fruit (*Berberidaceae*). *Energy Conversion and Management* 49: 2865-2871.
- Anonymous. 2016. Agricultural Statistics, crop year 2015-2016. Ministry of Agriculture publication, Planning and Support Deputy, *General Directorate of Statistics and Information*.
- Azarpazhooh, E., & Ramaswamy, H. S. 2012. Modeling and optimization of microwave osmotic dehydration of apple cylinders under continuous-flow spray mode processing conditions. *Food and Bioprocess Technology*, 5(5):1486-1501.
- Bas, D., & Boyac, I. 2007. Modeling and optimization II: Comparison of estimation capabilities of response surface methodology with artificial neural networks in a biochemical reaction. *Journal of Food Engineering*, 78: 846-854.
- Basti, A.A., Moshiri, E., Noorbala, A.A., Jamshidi, A.H., Abbasi, S.H., & Akhondzadeh, S. 2007. Comparison of petal of *Crocus sativus* L. and fluoxetine in the treatment of depressed outpatients: a pilot double-blind randomized trial. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 31(2): 439-442.
- Benzie, I.F.F., & Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power. The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.
- Catoni, C., Schaefer, H.M., & Peters, A. 2008. Fruit for health: the effect of flavonoids on humoral immune response & food selection in a frugivorous bird. *Funct. Ecol.*, 22(4): 649-654.
- Corzo, O., Bracho, N., Vasquez, A., & Pereira, A. 2008. Optimization of a thin layer drying process for coroba slices. *Journal of Food Engineering*, 85: 372-380.
- Elizalde, B. E., Bressa, F., & Dalla Rosa, M. 1992. Antioxidative action of Maillard reaction volatiles: influence of

- Maillard solution browning level. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69: 331-334.
- Erbay, Z., & Icier, F. 2009. Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 91: 533-541.
- Farhoosh, R., & Moosavi, S.M.R. 2006. Determination of carbonyl value in rancid oils: a critical reconsideration. *Journal of Food Lipids.*, 13: 298-305.
- Fatehi, M., Rashidabady, T., & Fatehi-Hassanabad, Z. 2003. Effects of *Crocus sativus* petals' extract on rat blood pressure & on responses induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea-pig ileum. *J. Ethnopharmacol.*, 84(2):199- 203.
- Francis, F. J. 1989. Food colorants: anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*. 28: 273-314.
- Garau, M.C., Simal, S., Rosello, C., & Femenia, A. 2007. Effect of air drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. *Canoneta*) by-products. *Food Chem*, 104: 1014-1024.
- Giri, S.K., & Prasad, S. 2007. Drying kinetics and rehydration characteristics of microwave-vacuum and convective hot-air dried mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 78(2): 512-521.
- Giusti, M.M., & Wrolstad, R.E. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochem. Eng. J.*, 14(3): 217-225.
- Gowen, A., Abu-Ghannam, N., Frias, J. & Oliveira, J. 2006. Optimisation of dehydration and rehydration properties of cooked chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing microwave-hot air combination drying. *Food Science and Technology*, 17: 177-183.
- Hammami, C., Rene, F., & Marin, M. 1999. Process-quality optimization of the vacuum freeze-drying of apple slices by the response surface method. *International Journal of Food Science & Technology*, 34(2): 145-160.
- Hemmati Kakhki, A. 2010. Optimization of Factors Affecting the Production of Food Color from Saffron Petals. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15 (2): 11-19.
- Hosseinzadeh, H., & Younesi, H.M. 2002. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol.* 2(1): 1-8.
- Huang, J., & Ling, Y. 2011. Microencapsulation of anthocyanins from Fruits of *berberis kaschgarica* Rupr. *Food Science*, 32(16): 16-21.
- Katsube, t., Tsurunaga, Y., Sugiyama, M., Furuno, T., & Yamasaki, Y. 2009. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus Alba* L.) leaves. *Food Chemistry*, 113: 964-969.
- Kaushik, V., And Roos, Y.H. 2007. Limonene encapsulation in freeze- drying of gum Arabicsucrose - gelatin systems. *LWT, Food science and. Technology* 40: 1381-1391.
- Kazuma, K., Noda, N. & Suzuki, M. 2003. Flavonoid composition related to petal color in different lines of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry*, 64(6): 1133-1139.
- Koocheki, A., & Azarpazhooh, E. 2009. Evaluation of mass exchange during osmotic dehydration of plum using response surface methodology. *International Journal of Food Properties*, 13: 155-166.
- Larrauri, J. A., Ruperez, P., & Saura-Calixto, F. 1997. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 45: 1390-1393.
- Madamba, P.S. 2002. The Response Surface Methodology: An Application to Optimize Dehydration Operations of Selected Agricultural Crops. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 35: 584-592.
- Mahdavee Khazaeia, S.M., Jafaria, M., Ghorbania, A., & Hemmati Kakhk, A. 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.
- Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M., & Lerici, C. 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science and Technology*, 11: 340-346.
- Maskan, M., & Gogus, F. 1998. Sorption isotherms and drying characteristics of mulberry (*Morus Alba*). *Journal of Food Engineering*, 37: 437-449.
- Miranda, M., Maureira, H., Rodriguez, K., & Vega-Galvez, A. 2009. Influence of temperature on the drying kinetics, physicochemical properties, and antioxidant capacity of Aloe Vera (*Aloe Barbadensis* Miller) gel. *Journal of Food Engineering*, 91(2): 297-304.
- Montoro, P., Tuberoso, C.I.G., Maldini, M., Cabras, P., & Pizza, C. 2008. Qualitative profile and quantitative determination of flavonoids from *Crocus sativus* L. petals by LC-MS/MS. *Nat Prod Comm*, 3(12):2013-6.
- Mwithiga, G., & Olwal J. O. 2005. The drying kinetics of kale (*Brassica oleracea*) in a convective hot air dryer. *Journal of Food Engineering*, 71: 373-378.
- Nogala-Kalucka, M., Korczak, J., Dratwia, M., Lampart-Szczapa, E., Siger, A., & Buchowski, M. 2005. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. *Food Chemistry*, 93: 227-235.
- Pabis, S., Jayas, D., & Cenkowski, S. 1998. Grain drying, theory and practice, *John Wiley & Sons*.
- Piga, A., Del Caro, A., & Corda, G. 2003. From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and

antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3675– 3681.

Que, F., Mao, L., Fang, X., & Wu, T. 2008. Comparison of hot air-drying and freeze-drying on the physicochemical properties and antioxidant activities of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) flours. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(7): 1195–1201.

Rouissi, T., Mahmoudi, A., Tyagi, R.D., Brar, S.K., PrVost, D., & Surampalli, R.Y. 2007. Optimisation of spray drying by response surface methodology for the production of *Sinorhizobium meliloti* powder formulation by using starch industry wastewater. *Biosystems Engineering*, 114 (3): 334-343.

Sanchez, F.D., Santos Lopez, E.M., Kerstupp, S.F., Ibarra, R.V., & Scheinvar, I. 2006. Colorant extraction from red prickly pear (*Opuntia lasiacantha*) for food application. *Electronic Journal of Environment Agriculture and Food Chemistry*, 5:1330-1337.

Severini, C., & Lerici, C. R. 1995. Interaction between the Maillard reaction and lipid oxidation in model systems during high temperature treatment. *Ital. J. Food Sci.*, 2: 189-196.

Sharifi, M., Rafiei, S.H., Kayhani, A., Omid, M. 2010. Drying orange thin sheets in a thin layer dryer and select an appropriate mathematical model. *Journal of Bio Systems Engineering*, 41(1): 61-67.

Singer, A., Nogala-kalucka, M., & Lampart-Szczapa, E. 2007. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*, 15: 137-149.

Sun, D. 2008. Computer vision technology for food quality evaluation. Academic Press, New York.

Sun, D.W. & Woods, J.I. 1994. Low temperature moisture transfer characteristics of wheat in thin layers. *Transactions of the ASAE*, 37 (6): 1919-1928.

Termentzi, A., & Kokkalou, E. 2008. LC-DAD-MS (ESI+) analysis and antioxidant capacity of crocus sativus petal extracts. *Planta Med.*, 74(5): 573-581.

Uddin, M.B., Ainsworth, P., & Ibanoglu, S. 2004. Evaluation of mass exchange during osmotic dehydration of carrots using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 65:473-477.

Vega-Gálvez, A., Lemus-Mondaca, R., Bilbao-Sáinz, C., Fito, P., & Andrés, A. 2008. Effect of air drying temperature on the quality of rehydrated dried red bell pepper (var. *Lamuyo*). *Journal of Food Engineering*, 85(1): 42-5.

Wojdyło, A., Figie, A., & Lech, K. 2014. Effect of Convective and Vacuum-Microwave Drying on the Bioactive Compounds, Color, and Antioxidant Capacity of Sour

Yaldiz, O., Ertekin, C., & Uzun, H. I. 2001. Mathematical modeling of thin layer drying of sultana grapes. *Energy*, 26: 457-465.

Yen, G. C.; & Hsieh, P. 1995. Antioxidative activity and scavenging effects on active oxygen of xylose-lysine Maillard reaction products. *J. Sci. Food Agric*, 67: 415-420.

Zaiton, H., I. Suzila, M.M.B. Ahmed-Mahir, Y. Salmah & H. Chkzaini. 2009. Quality of roselle tea as affected by drying temperature and storage time. *Prosiding Seminar Kimia Bersama*.



Optimization of thin layer drying conditions of saffron petal using Response Surface methodology

P. Sharayei^{1*}, H. Chaji¹

Received: 2017.09.23

Accepted: 2018.05.08

Introduction: Saffron (*Crocus sativus*) is the most expensive kind of spice in the world while around 400 tons of saffron are estimated to be produced in the current Iranian year (March 2016-17) from 90,000 hectares of land under saffron cultivation across the country. But, high share of producing saffron is exclusively dedicated to produce and dry saffron stigma as whereas their violet color petals are mostly ignored and disposed. Saffron petal is one of the most economical sources of anthocyanin pigments. Attractive colour, functional properties and antioxidant properties of anthocyanins can make them a good substitute for synthetic pigments in the food industry. But, due to high moisture content of petals, 96.36% db, they must be dehydrated immediately to prevent the decay. In the meanwhile, the drying conditions are also too critical to petal sensitive compounds while the method of drying along with drying period and the amount of energy consumed, obviously play a significant role on price and quality of the final product.

Materials and methods: In this study, the optimization of the thin layer drying conditions of saffron petal was investigated using response surface methodology (RSM) and Face Centered Experimental Design (FCED) in order to designate the empirical experiments. Saffron petals were dried at different temperatures (40, 50 and 60°C) and air velocities (0.7, 1.4 and 2.1 m.s⁻¹) in a thin layer dryer and quantitative and qualitative characteristics of saffron petals (color (L: brightness; a: red – green; and b: blue-yellow, total phenolic compounds (TPC), total anthocyanin components (TAC), scavenging activity of DPPH (RSA), ferric reducing-antioxidant power (FRAP) and minimized 50% of radical-scavenging activity (IC₅₀) contents) were investigated.

Results & discussions: Maintaining the quality of final dried product as high as possible is a major concern while it is an important aspect to consider for use of phenolic compounds and anthocyanins as antioxidants and colorants in food industry. The results showed that the total phenolic compounds (TPC) and total anthocyanin content (TAC) had a remarkable increase with temperature rise from 40 to 50°C while more temperature increase brought about sharp drops. But, an increasing trend of variations is observed in parallel with increases in velocity of drying air for each temperature. The rise in anthocyanin and phenolic content is more attributed to much significant reduction in drying duration from 40 to 50°C in comparison with 50 to 60°C. It was also observed that total antioxidant activity of dried saffron petals showed the same response as TPC and TAC to temperature rise from 40 to 50°C. Such behaviour could be explained by the findings of other researchers in which the antioxidant activity has high correlation with anthocyanin content and total phenolic composition of food materials. As a complementary, it can be mentioned that polyphenols in an intermediate stage of oxidation have greater antioxidant power than initially even though this is temporary; furthermore high temperature stabilization procedures may lead to the formation of new compounds with higher antioxidant activity. This is essentially the case of the Maillard reaction, which creates various Maillard reaction products, with markedly higher antioxidant power.

Conclusion: Generally, according to Derringer's desired function approach, the optimal conditions were 50°C and 1.4 m.s⁻¹. The experimental values agreed with those predicted values. At this optimum condition, the TPC, TAC, DPPH, FRAP, and a value of the dried saffron petal were found to be 46.39 mg/ g, 1205.58 mg/l, 52.97%, 1276.52 µmol Fe²⁺/l, and 11.13, respectively. The experimental values were in a good agreement with the predicted values.

Key words: Antioxidant properties, anthocyanin, drying, phenolic compound, saffron petal.

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

(* Corresponding author E-mail: parvin_sharayei@yahoo.com)



ارزیابی اثر متغیرهای ترکیب خوراک و دمای اکستروژن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی اسنک بر پایه آرد جو و تفاله هویج

سرور لطفی شیرازی¹ - آرش کوچکی^{2*} - الناز میلانی³ - محبت محبی²

تاریخ دریافت: 1396/08/20

تاریخ پذیرش: 1397/03/22

چکیده

اسنک‌های غذای بخش عمده‌ای از رژیم غذایی افراد را تشکیل می‌دهد. در سال‌های اخیر تقاضا برای تبدیل ضایعات سبزیجات و میوه‌ها به دلیل داشتن میزان فیبرهای رژیمی به محصولات مفید افزایش یافته است. تفاله هویج دارای مقدار زیادی فیبرهای رژیمی که حاوی خواص عملکردی و تغذیه‌ای مهمی می‌باشد. جو حاوی مقادیر زیادی فیبر رژیمی به‌ویژه فیبرهای محلول می‌باشد که اهمیت زیادی در کاهش سطح کلسترول خون دارد. در این پژوهش با استفاده از روش سطح پاسخ و نرم‌افزار Design Expert اثر دمای محفظه (120-170 درجه سانتی‌گراد)، میزان رطوبت (20-14 درصد) و مقدار تفاله هویج (25-10 درصد) بر ویژگی‌های نسبت انبساط شعاعی، دانسیته توده‌ای، سختی، رنگ، شاخص جذب آب، شاخص حلالیت در آب و همچنین از نظر پذیرش حسی مورد ارزیابی قرار گرفت. با افزایش تفاله هویج، نسبت انبساط، میزان روشنایی، شاخص جذب آب و پذیرش کلی کاهش یافت. در حالیکه با افزایش رطوبت، نسبت انبساط، شاخص حلالیت در آب کاهش و میزان روشنایی و شاخص جذب آب افزایش یافت. با افزایش دما میزان سختی بافت و دانسیته افزایش یافت اما روشنایی کاهش و نسبت انبساط، شاخص جذب آب، شاخص حلالیت در آب تا دمای 145 درجه سانتی‌گراد افزایش و سپس کاهش یافت. در نهایت شرایط بهینه فرایند اکستروژن با استفاده از روش سطح پاسخ و نرم‌افزار Design Expert در مقدار تفاله هویج 10 درصد، و دمای محفظه 148 درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت 15/49 درصد تخمین زده شد. و اسنک‌های تولید شده تحت شرایط بهینه میزان فیبرهای رژیمی محلول طی فرایند اکستروژن از 7/63 به 9/27 نسبت به نمونه اکستروژن نشده افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: اکستروژن، بهینه‌سازی، فیبرهای رژیمی، آرد جو، تفاله هویج

مقدمه

با محیط اطراف تعادل برقرار می‌کند و موجب انبساط محصول اکستروژن شده می‌شود (Kaisangsri et al, 2016). مطالعات نشان داده است که اکستروژن نسبت بین فیبرهای رژیمی محلول و نامحلول را به دلیل واکنش ترانس گلیکوزید تغییر می‌دهد ولی اثر معنی‌دار در کاهش مقدار کل فیبر رژیمی نداشته است (Chang et al, 2015). Huang و همکاران (2016) گزارش کردند که میزان SDF نارنگی پس از اکستروژن از 17/31 درصد به 30/29 درصد افزایش یافت. ولی میزان IDF از 46/52 درصد به 33/57 درصد کاهش یافت. فیبر به‌طور معمول باعث پارگی حباب‌های سلول می‌شود، به‌عنوان یک ماده پرکننده در محصولات اکستروژن شده عمل می‌کند. فیبر عامل هسته‌زایی سلول می‌باشد که باعث افزایش تعداد سلول‌های کوچک در ساختار می‌گردد و در مقدار پایین، مانع رشد حباب نمی‌شود ولی در مقادیر بالا به دلیل تجمع فیبر، باعث پارگی حباب‌های هوا می‌گردد (Kaisangsri et al, 2016). نتایج Chanvriar و همکاران (2007) با استفاده از میکروسکوپ نوری نشان داد که ذرات سبوس در محلی از ماتریکس اتصالات ضعیفی

اسنک همواره بخش قابل توجهی از میان وعده افراد را در زندگی مدرن تشکیل می‌دهد. بهبود ارزش تغذیه‌ای این دسته از میان وعده‌ها به‌گونه‌ای که خواص فناوری آن دستخوش تغییرات نامطلوب نشود، الزامی است (خزین و همکاران، 1393). برای این منظور می‌توان موادی از قبیل میوه‌ها و سبزیجات که جنبه‌های سلامتی بخشی دارند استفاده کرد (Potter et al, 2013). فناوری اکستروژن فرایند دما بالا-زمان کوتاه است (Altan et al, 2008)، که نشاسته در اثر درجه حرارت، رطوبت و سرعت برشی در طی پخت اکستروژن ژلاتینه شده، پس از خروج خمیر از اکستروژن، فشار و دمای محصول

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

3- استادیار، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، جهاد دانشگاهی مشهد.

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

DOI: 10.22067/ijfstr.v14i5.68582

ایجاد می کند که باعث تشکیل هسته می شود. احتمالاً فیبر موجود در تفاله ناپیوستگی هایی در ماتریکس نشاسته ایجاد می کند که باعث افزایش تعداد سلول های کوچک منبسط نشده و در نتیجه کاهش انبساط می گردد. نتایج مشابه توسط Yanniotis و همکاران (2007) که در آن فیبر گندم در محصولات اکستروود شده منجر به کوچک شدن اندازه سلول و افزایش تعداد سلول شد نیز مشاهده شده است. مصرف فیبرهای رژیمی کلسترول خون، خطر بیماری های قلبی و عروقی، سرطان روده بزرگ و چاقی را کاهش می دهد (Chau et al, 2004). فواید فیبرهای رژیمی، پژوهشگران مواد غذایی را برای یافتن منبع جدید از فیبرها به عنوان مواد غذایی تشویق کرده است.

جو (*Hordeum vulgare* L.) قدیمی ترین محصول زراعی و چهارمین غله مهم پس از گندم، برنج و ذرت در جهان می باشد (Wenwen et al, 2017). این غله حاوی مقادیر زیادی فیبر رژیمی به ویژه فیبرهای محلول نظیر بتاگلوکان است که اهمیت زیادی در کاهش سطح کلسترول خون دارد. جو یک غله مهم از نظر وجود ترکیبات تغذیه ای و عملکردی از جمله ترکیبات فنولی که به عنوان مکمل رژیم غذایی انسان استفاده می شود، می باشد (Alu'datt et al, 2012). Gupta و همکاران (2008) اثر آرد جو بر اسنک های اکستروود شده برپایه آرد برنج مورد بررسی قرار دادند. طرح مرکب مرکزی به منظور بررسی اثر متغیرهای فرایند اکستروژن، درجه حرارت (200-150 درجه سانتی گراد)، میزان رطوبتی (40-20 درصد)، سرعت مارپیچ (110-90 دور بر دقیقه) و آرد جو (30-10 درصد) بر ویژگی های مانند: نسبت انبساط شوندگی، دانسیته توده، شاخص جذب آب، سختی، بتا گلوکان، ارزش a، b و L، حسی و را مطالعه کردند. نمرات حسی نشان داد که آرد جو 20 درصد، رطوبت 30 درصد، درجه حرارت 175 درجه سانتی گراد و سرعت مارپیچ 100 دور بر دقیقه یک محصول قابل قبولی است.

ضایعات میوه و سبزی محتوای فیبر بالایی دارند و در نتیجه ظرفیت اتصال به آب در آنها بالا بوده و قابلیت هضم آنزیمی کمی دارند (Serena et al, 2007). هویج (*Daucus carota* L.) یکی از سبزیجات ریشه ای مهم است که معمولاً برای تولید آب هویج مورد استفاده قرار می گیرد (Chau et al, 2004). تفاله هویج غنی از ویتامین ها، مواد معدنی و فیبرهای رژیمی است، تفاله حاصل از آب هویج استفاده مناسبی ندارد و منبع مشکلات زیست محیطی به حساب می آید و کاملاً فاسد شدنی است (Shafiq et al, 2014). به دلیل محتوای فیبری بالای تفاله هویج می توان از آن برای توسعه محصولات فیبری استفاده کرد (Shafiq et al, 2014). در زمینه موضوع پژوهش، تاکنون مطالعاتی شامل نتایج تحقیق Altan و همکاران (2008) بر روی ویژگی های مخلوط آرد جو و تفاله گوجه فرنگی اکستروود شده نشان داد، تغییرات دما و سطح تفاله بیشترین و سرعت مارپیچ کمترین اثر را بر ویژگی های اسنک تولیدی

داشت. سطح تفاله گوجه فرنگی 10 و 20 درصد در دمای 160 درجه سانتی گراد و سرعت مارپیچ 200 دور بر دقیقه بالاترین امتیاز رنگ، بافت، طعم و پذیرش کلی را به خود اختصاص داد. نتایج نشان داد که تفاله گوجه فرنگی را می توان با آرد جو به عنوان اسنک مغذی و قابل قبول اکستروود نمود. Kaisangsri و همکاران (2016) نشاسته ذرت را با تفاله هویج اکستروود کردند و نتایج نشان داد، در سطوح 5 گرم در 100 گرم تفاله هویج و رطوبت 15 گرم در 100 گرم بیشترین تأثیر را بر میزان انبساط داشت و سطوح بالاتر تفاله هویج کاهش قابل توجهی در میزان انبساط این محصول نشان داد.

هدف از این پژوهش ارزیابی اثر متغیرهای ترکیب خوراک و دمای اکستروژن بر ویژگی های فیزیکی شیمیایی، حسی اسنک و یافتن شرایط بهینه مناسب می باشد.

مواد و روش ها

آرد جو از کارخانه چورک توس خریداری شد. تفاله هویج از مغازه آبمیوه فروشی تهیه گردید و در آن هوای داغ در دمای 40 درجه سانتی گراد به مدت یک شبانه روز تا زمانی که به وزن ثابت برسد، خشک شد. تفاله های خشک آسیاب و از طریق الکی با شماره مش 40 (425 میکرون) یکنواخت شد. پودر تفاله هویج در پلاستیک های پلی اتیلنی در دمای اتاق تا زمان استفاده نگهداری و سپس ترکیب شیمیایی آرد جو و تفاله هویج با استفاده از روش های استاندارد AOAC (2000) اندازه گیری شد. تعیین چربی به روش سوکسله، اندازه گیری پروتئین با روش کجدرال (ضریب تبدیل ازت به پروتئین 5/7) و تعیین خاکستر نمونه با کوره 550 درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. اندازه گیری فیبر خام مطابق با روش های استاندارد AOAC (2000) به شماره 1981-5498 تعیین شد. برای تعیین رطوبت از آون 105 درجه سانتی گراد استفاده شد. برای محاسبه میزان کربوهیدرات از طریق کسر درصد کلیه ترکیبات از 100 انجام شد.

تهیه فرمولاسیون مخلوط آرد جو- تفاله هویج برای اکستروژن

پودر تفاله هویج در مقادیر 10، 17/5 و 25 درصد با آرد جو مخلوط گردید. جهت تعیین میزان آب مورد نیاز برای رسیدن به رطوبت مطلوب (14، 17 و 20 درصد) از مربع پیرسون استفاده گردید. پس از 15 دقیقه مخلوط کردن، در پلاستیک پلی اتیلنی بسته بندی شد. برای به تعادل رسیدن رطوبت به مدت 24 ساعت در یخچال نگهداری شدند و یک ساعت قبل از فرآیند اکستروژن از یخچال خارج شدند (Kaisangsri et al, 2016).

شرایط فرآیند اکستروژن

به منظور فرمولاسیون و تهیه نمونه های اسنک از دستگاه

مخصوص ریخته شد به اندازه‌ایی که کف ظرف کاملاً پوشیده شود. در نهایت مقادیر L^* (میزان روشنایی)، a^* (میزان قرمزی) و b^* (میزان زردی) تعیین گردید (Stojceska et al, 2008).

شاخص جذب آب (WAI^2)

اسنک ابتدا آسیاب شده و برای یکنواخت کردن اندازه ذرات از الک با شماره مش 40 عبور داده شد. سپس 2/5 گرم از نمونه آسیاب شده در فالكون از پیش توزین شده اضافه گردید، سپس 25 میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده و در دمای اتاق به مدت 30 دقیقه با دستگاه شیکر مدل ZX3 با سرعت 2000 دور بر دقیقه همزده شد و مخلوط حاصل در 3000g به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ گردید. در نهایت مایع رویی را از فالكون خارج کرده و ژل باقی مانده توزین شد. شاخص جذب آب از رابطه زیر محاسبه شد (Shafiq et al, 2016).

$$(2) \quad \text{وزن ژل باقی مانده} / \text{وزن نمونه خشک} = \text{شاخص جذب آب}$$

شاخص حلالیت در آب (WSI^3)

ابتدا مایع رویی فالكون در مرحله اندازه‌گیری شاخص جذب آب، به پلیتی که از قبل توزین شده بود انتقال یافت. سپس در آن هوای داغ با دمای 105 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و در نهایت پلیت به همراه رسوبات موجود توزین شد و میزان حلالیت در آب با استفاده از رابطه زیر، محاسبه گردید (Shafiq et al, 2016).

(2) وزن نمونه / وزن ماده خشک محلول در مایع رویی فالكون = شاخص حلالیت در آب

آزمون حسی

10 دانشجو برای ارزیابی اسنک‌ها انتخاب شد، از هر نمونه 3 اسنک انتخاب و برای ارزیابی در اختیار ارزیابان قرار گرفت. با استفاده از آزمون هدونیک 5 نقطه‌ای میزان پذیرش اسنک ($=1$ خیلی بد، $=5$ خیلی خوب) (ISO 11136: 2014) (Rathod, 2016) ارزیابی شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش از روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی چرخش‌پذیر جهت بررسی اثر متغیرهای مستقل (تفاله هویج، x_1 ؛ دما، x_2 ؛ رطوبت، x_3) بروی ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی و حسی استفاده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Design Expert 7,0,0 انجام شد. در طرح آزمایش، شش نقطه مرکزی برای محاسبه تکرارپذیری روش و تعیین خطای آزمایش انتخاب شد. برای توصیف مدل‌ها از معادله

اکسترودر جفت مارپیچی (Jians Saxin, DS 56) چین) موجود در پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد استفاده شد. متغیرها شامل تفاله هویج (10، 17/5 و 25 درصد)، دمای محفظه میانی (120، 145 و 170 درجه سانتی‌گراد) و میزان رطوبت (14، 17 و 20 درصد) بود. میزان خوراک و سرعت مارپیچ ثابت به ترتیب برابر 1/5 کیلوگرم و 150 دور بر دقیقه تعیین گردید و قطر منفذ خروجی 4 میلی‌متر در نظر گرفته شد. اسنک‌های خروجی از اکسترودر به منظور خشک کردن بر روی نوار نقاله خشک‌کن تونلی با دمای 40 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و در پلاستیک‌های پلی‌اتیلنی کدگذاری شده و در دمای اتاق نگهداری گردید.

نسبت انبساط شعاعی

از هر تیمار 10 نمونه به‌طور تصادفی انتخاب و با استفاده از کولیس دیجیتالی، از سه قسمت مختلف قطر نمونه اندازه‌گیری شد. سپس از طریق تقسیم میانگین قطر نمونه بر قطر قالب اکسترودر، میزان انبساط شعاعی برحسب درصد محاسبه گردید (Harper, 1981).

دانسیته توده‌ای¹

از هر نمونه 10 اسنک انتخاب شد سپس میانگین قطر و طول هر اسنک اندازه گرفته شد و سپس از طریق رابطه زیر دانسیته توده محاسبه شد

$$(1) \quad 4m/\pi d^2 l = \text{دانسیته توده}$$

m = میانگین جرم اسنک، d = میانگین قطر اسنک، l = میانگین طول اسنک

سختی

جهت اندازه‌گیری سختی محصول از دستگاه آنالیزگر بافت استفاده شد. از هر تیمار 5 اسنک به‌طور کاملاً تصادفی انتخاب شد. پروب استیل استوانه‌ای به قطر 2 میلی‌متر و با سرعت ثابت 1 میلی‌متر در ثانیه و عمق نفوذ پروب 8 میلی‌متر در نظر گرفته شد. به محض رسیدن پروب به عمق مورد نظر، پروب از نمونه خارج و نمودار نیرو- زمان برای نفوذ پروب در نمونه رسم گردید. در نهایت بیشینه نیرو وارد شده بر حسب نیوتون توسط دستگاه به‌عنوان سختی اعلام شد (Hashemi et al, 2017).

رنگ

رنگ اسنک‌های تولید شده با استفاده از دستگاه‌های اندازه‌گیری شد. ابتدا نمونه‌ها به‌صورت پودر درآمد و در ظرف

² Water Absorbition Index

³ Water Solution Index

¹Bulk density

نتایج و بحث

تعیین ترکیب شیمیایی

جدول 1- ترکیب شیمیایی آرد جو و پودر تفاله هویج بر مبنای ماده خشک (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

ترکیب (%) شیمیایی (%)	آرد جو	تفاله هویج
پروتئین	9/35 $\pm$ 0/19	5/57 $\pm$ 0/50
خاکستر	1/79 $\pm$ 0/36	5/63 $\pm$ 0/51
چربی	2/31 $\pm$ 0/18	1/23 $\pm$ 0/25
فیبر خام	2/96 $\pm$ 0/70	7/04 $\pm$ 0/42
رطوبت	7 $\pm$ 0/40	7 $\pm$ 0/24
کربوهیدرات	76/57 $\pm$ 0/13	73/51 $\pm$ 0/23

ترکیب شیمیایی آرد جو و تفاله هویج در جدول 1 مشخص گردیده است.

تجزیه مدل برازش یافته برای متغیرهای پاسخ اسنک بر پایه آردجو و تفاله هویج

ضریب رگرسیون به همراه R^2 ، $Adj-R^2$ و CV در جدول 2 برای بررسی کفایت مدل محاسبه شد. ضعف برازش برای تمام پاسخها بی معنی بود که دقیق بودن مدل های پیش بینی را نشان می دهد. در نتایج این پژوهش R^2 و $Adj-R^2$ برای تمام پاسخها بالاتر از 0/80 بود که بیانگر توان بالای مدل در برازش داده ها می باشد. CV هر پاسخ کمتر از 10 درصد بود که نشانگر دقت و صحت آزمایش انجام داده شده می باشد.

نسبت انبساط شعاعی

با افزایش میزان تفاله هویج در فرمول، نسبت انبساط کاهش یافت (شکل 1، الف). یکی از عواملی که بر میزان نسبت انبساط مؤثر است، درجه ژلاتینه شدن نشاسته می باشد (Gomez et al, 1984). فیبر امکان دسترسی آب برای ژلاتینه شدن نشاسته را محدود کرده، ویسکوزیته ماده مذاب را افزایش داده و در نهایت باعث کاهش میزان انبساط فراورده نهایی می شود (Yanniotis et al, 2007). نتایج مشابهی توسط Altan و همکاران (2008) و Selani و همکاران (2014) به ترتیب برای محصولات تهیه شده از تفاله گوجه فرنگی و آناناس گزارش شده است. نسبت انبساط با افزایش دما از 120 به 145 درجه سانتی گراد، افزایش یافت (شکل 1، الف). افزایش دما از طریق گرم کردن بیش از حد آب باعث رشد حبابها شده و نسبت انبساط را افزایش می دهد (Ding et al, 2005; Fletcher, 1985). با این وجود افزایش دما به بیش از 145 درجه سانتی گراد، به علت تخریب بیش از حد نشاسته باعث کاهش میزان انبساط شد (Mendonça et al, 2000). میزان رطوبت از فاکتورهای اصلی مؤثر بر انبساط و دانسیته توده می باشد (Ilo et al, 1999). با افزایش رطوبت میزان

زیر استفاده شد، Y (توابع پاسخ) و X_i ، $i=1, 2, 3$ (متغیرهای مستقل) می باشد.

$$x_2 + b_3 x_3 + b_{11} x_1^2 + b_{22} x_2^2 + b_{33} x_3^2 + b_{12} x_1 x_2 + b_{13} x_1 x_3 + b_{23} x_2 x_3$$

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2$$

(3)

ضرایب مدل با b (ضریب ثابت)، b_1 ، b_2 و b_3 (اثر خطی)، b_{11} ، b_{22} و b_{33} (اثر درجه دوم)، b_{12} ، b_{13} و b_{23} (اثر متقابل) نشان داده شده است. اثرات معنی دار در مدل با تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) برای هر پاسخ مشخص شد. R^2 و $Adj-R^2$ برای مناسب بودن مدل پیش بینی شده مورد بررسی قرار گرفت. شرایط بهینه، با استفاده از تکنیک بهینه سازی عددی انتخاب شد. برای متغیرهای مستقل محدوده درحالی که برای پاسخها حداکثر یا حداقل در نظر گرفته شد.

ویژگی های شیمیایی اسنک اکستروژ شده

مقدار پروتئین، چربی و خاکستر نمونه بهینه ای که با استفاده از روش سطح پاسخ و نرم افزار Design Expert تعیین شد در شرایط اکستروژ شده و نشده مطابق با روش های استاندارد AOAC (2000) اندازه گیری شد. مقدار فیبرهای رژیمی کل، محلول و نامحلول مطابق با روش Huang و همکاران (2016) و بسته آنزیمی شرکت Megazyme اندازه گیری شد. ابتدا یک گرم (w_1) از محصول آسیاب شده را با 50 میلی لیتر فسفات بافر با pH=6 مخلوط گردید. سپس به ترتیب با آنزیم آلفا آمیلاز، پروتئاز و آمیلوگلوکوزیداز گرمخانه گذاری شد. سپس محتویات ظرف با استفاده از کروزه فیلتر شد و فیبر باقی مانده بر روی کروزه با آب دیونیزه، اتانول و استون شستشو داده شد. کروزه را در آون 105 درجه سانتی گراد خشک و وزن آن برای تعیین مقدار فیبر رژیمی نامحلول یادداشت گردید (w_2). برای تصحیح مقدار فیبر نامحلول تمام مراحل در سه ظرف جداگانه برای اندازه گیری پروتئین در محتویات نمونه باقی مانده از طریق روش کلدال اندازه گیری شد (w_3) و خاکستر از طریق کوره 550 درجه سانتی گراد به مدت 4 ساعت قرار گرفت و سپس توزین شد (w_4) و نمونه شاهد (w_5) صورت گرفت.

$$(4) \quad \text{مقدار فیبر نامحلول} = \frac{w_2 - w_3 - w_4 - w_5}{w_1} \times 100$$

فیبر محلول: فاز مایع عبوری با 4 برابر حجم آن از اتانول مخلوط گردید و پس از فیلتراسیون فیبر روی کروزه را سه مرتبه با 20 میلی لیتر اتانول 78 درصد و دو مرتبه با 10 میلی لیتر اتانول 95 درصد و دو مرتبه با 10 میلی لیتر استون شستشو داده شد و سپس در آون 105 درجه سانتی گراد به مدت 5 ساعت قرار داده شد و وزن آن یادداشت گردید. تصحیح مقدار پروتئین و خاکستر برای فیبر محلول نیز انجام شد. از مجموع فیبر نامحلول و محلول مقدار فیبر رژیمی کل به دست آمد.

افزایش دانسیته توده فراورده اکستروژن شده می-گردد (Ding et al, 2006).

نسبت انبساط کاهش یافت (شکل 1، ب). افزایش رطوبت سبب کاهش دمای محفظه می-شود. دمای پایین فرایند، منجر به کاهش میزان ژلاتینه شدن که در نهایت باعث کاهش میزان انبساط و

جدول ۲- آنالیز واریانس (ANOVA) و ضریب رگرسیونی متغیرها در مدل پیش بینی برای نتایج ویژگی‌های فیزیکی

نسبت انبساط شعاعی (%)			دانسیته توده (گرم / سانتی متر مکعب)			سختی (نیوتن)		
منبع	درجه آزادی	ضریب	مجموع مربعات	P-Value	درجه آزادی	ضریب	مجموع مربعات	P-Value
A	۱	-۰/۳۴	۰/۵۹	**./۰۰۰۱	۱	۰/۵۶	۲/۱۴	**./۰۰۰۱
B	۱	-۰/۰۳۶	۰/۰۱۳	ns./۰۰۵۷	۱	-۰/۳۱	۰/۹۸	*./۰۰۱۱
C	۱	-۰/۰۸	۰/۳۴	**./۰۰۰۱	۱	۰/۳۷	۱/۳۵	*./۰۰۰۳
AB	۱	-۰/۰۲۸	۰/۴۲×۱۰ ^{-۳}	ns./۰۰۶۷				
AC	۱	۸/۰۱۳×۱۰ ^{-۳}	۵/۱۳۶×۱۰ ^{-۳}	ns./۰۰۸۴				
BC	۱	-۷/۳۳×۱۰ ^{-۳}	۴/۸۱×۱۰ ^{-۳}	ns./۰۰۷۳				
A ^۲	۱	۰/۱۹	۰/۱	*./۰۰۰۲				
B ^۲	۱	-۰/۱۹	۰/۱	**./۰۰۰۱				
C ^۲	۱	-۰/۱۳	-۰/۰۴۵	*./۰۰۲۸				
model	۹	۷/۴۰	۱/۸	**./۰۰۰۱	۳	۷/۵۱	۵/۴۷	**./۰۰۰۱
Residual	۱۰		۰/۰۳۹		۱۶		۰/۹۹	
Lack of fit	۵		۷/۷۳×۱۰ ^{-۳}	ns./۰۰۵۵	۱۱		۰/۱۴	ns./۰۰۹۹۷
Pure error	۵		۰/۰۲۱		۵		۰/۸۵	
Cor total	۱۹		۱/۳۱		۱۹		۶/۴۷	
R ^۲		۰/۹۷۵۹				-۰/۸۶۶۲		
Adj -R ^۲		۰/۹۵۴۱				-۰/۸۱۷۴		
CV		۷/۱۹				۹/۹۳		

A (تقاله هونج)، B (دما)، C (رطوبت) *P<۰/۰۵ **P<۰/۰۰۱ ns بی معنی.

جدول ۲- آنالیز واریانس (ANOVA) و ضریب رگرسیونی متغیرها در مدل پیش بینی برای نتایج ویژگی‌های فیزیکی

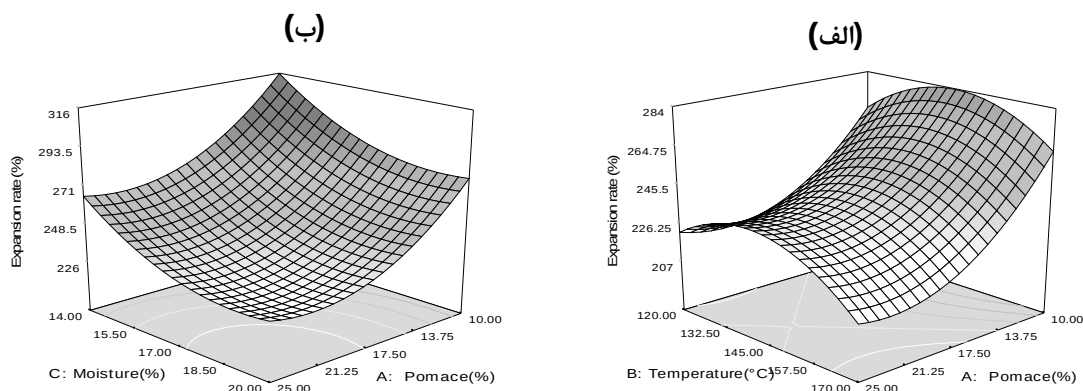
b*			a*			L*			منبع
P-Value	مجموع مربعات	ضریب	درجه آزادی	P-Value	مجموع مربعات	ضریب	درجه آزادی	P-Value	
ns./۶۵۵۸	۰/۰۶۳	-۰/۰۷۹	۱	**./۰۰۰۱	۱۶/۸۲	۱/۳۰	۱	**./۰۰۰۱	A
ns./۶۶۶۱	۰/۰۶۶	-۰/۰۸۲	۱	ns./۰۴۱۱	۰/۲۴	۰/۱۵	۱	*./۰۰۰۳	B
**./۰۰۰۱	۳۹/۵۳	۱/۷۲	۱	ns./۰۷۷۲۷	۸/۴۱۰ ^{-۲}	-۰/۰۲۹	۱	*./۰۱۴۲	C
				ns./۰۴۱۴۰	۰/۱۷	-۰/۱۴	۱	ns./۰۷۴۸۱	AB
				ns./۰۸۲۴	۰/۳۴	۰/۲۱	۱	ns./۰۶۸۱	AC
				*./۰۳۷۷	۰/۵۲	۰/۲۵	۱	ns./۰۵۸۷۱	BC
									A ^r
									B ^r
									C ^r
**./۰۰۰۱	۲۹/۶۶	۳۴/۵۲	۳	**./۰۰۰۱	۱۸/۱۰	۹/۵۶	۶	**./۰۰۰۱	model
	۴/۸۵		۱۶		۱/۲۶		۱۳		Residual
ns./۹۹۴۳	۱/۲۷		۱۱	ns./۰۵۳۷	۱/۱۱		۸	ns./۰۸۴۸	Lack of fit
	۳/۵۸		۵		۰/۱۵		۵		Pure error
	۳۴/۵۱		۱۹		۱۹/۳۵		۱۹		Cor total
		۰/۸۵۹۴				۰/۹۳۵۱			R ^r
		۰/۸۳۳۱				۰/۹۰۵۱			Adj-R ^r
		۱/۶۰				۳/۲۵			CV

A (تفاله هویج)، B (دما)، C (طوشت) * - P<۰/۰۵ ** P<۰/۰۰۱ ns بی معنی.

جدول ۲- آنالیز واریانس (ANOVA) و ضریب رگرسیونی متغیرها در مدل پیش بینی برای نتایج ویژگی‌های فیزیکی و حسی

پذیرش کلی				WSI(%)				WAI(گرم/گرم)				منبع
P-Value	مجموع مربعات	ضریب	درجه آزادی	P-Value	مجموع مربعات	ضریب	درجه آزادی	P-Value	مجموع مربعات	ضریب	درجه آزادی	
*./0.188	1/47	-0/38	1	*./0.1	26/0.3	1/61	1	**./0.001	0/34	-0/18	1	A
ns./0.4877	0/1	0/1	1	*./0.003	78/39	2/80	1	ns./0.6207	5/76x10 ⁻³	-7/6x10 ⁻³	1	B
*./0.001	3/87	-0/63	1	**./0.001	151/79	-3/97	1	**./0.001	0/29	0/17	1	C
ns ¹	0	0	1	ns./0.201	4/83	-0/78	1	ns./0.6819	3/92x10 ⁻³	-7x10 ⁻³	1	AB
ns./0.9266	1/25x10 ⁻³	0/13	1	*./0.118	34/44	1/75	1	ns./0.4361	1/45x10 ⁻³	0/14	1	AC
ns./0.5291	0/8	0/1	1	ns./0.201	4/83	-0/78	1	ns./0.4119	1/624x10 ⁻³	-0/14	1	BC
ns./0.5605	0/68	-0/16	1	ns./0.1020	8/40	1/75	1	ns./0.6413	5/114x10 ⁻³	0/14	1	A ^y
*./0.221	1/38	-0/71	1	*./0.007	61/3	-4/71	1	**./0.001	0/97	-0/19	1	B ^y
ns./0.2197	0/32	0/34	1	ns./0.9123	0/33	0/11	1	ns./0.5595	8/076x10 ⁻³	0/17	1	C ^y
*./0.132	7/73	4/39	9	**./0.001	371/25	25/19	9	**./0.001	0/78	4/81	9	model
	1/88		10		25/92		10		0/32		10	Residual
ns./0.5254	0/89		5	ns./0.3730	14/92		5	ns./0.8957	5/07x10 ⁻³		5	Lack of fit
	0/99		5		11		5		0/17		5	Pure error
	9/61		19		397/18		19		0/8		19	Cor total
		0/8042				0/9347				0/9723		R ^y
		0/6280				0/8760				0/9473		Adj-R ^y
		10/77				6/78				0/99		CV

A (تفاله هونج)، B (دما)، C (رطوبت) * P<0.05 ** P<0.001 ns بی معنی.

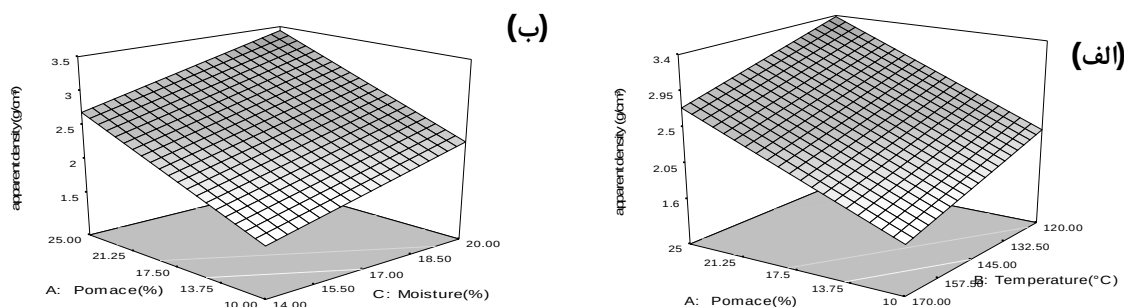


شکل 1- نمودار سطح پاسخ برای اثر متغیرهای اکستروژن بر نسبت انبساط (الف) اثر تفاله و دما در رطوبت 17 درصد (ب) اثر رطوبت و تفاله در دمای 145 درجه سانتی گراد.

دانسیته توده

دانسیته توده میزان پف کردن محصول اکستروود شده در تمام جهات را نشان می‌دهد (Caltinoglu et al, 2013). با افزایش دمای اکستروودر، دانسیته توده اسنک کاهش یافت (شکل 2، الف). افزایش دمای اکستروژن تا 145 درجه سانتی‌گراد باعث گرم شدن بیش از حد آب، سیال داخل اکستروودر می‌شود که به نوبه خود باعث افزایش حجم حباب‌ها می‌گردد و با کاهش ویسکوزیته مذاب، دانسیته محصول را کاهش می‌دهد (Fletcher, 1985). نتایج تحقیق Stojceska و همکاران (2008) نشان داد که با افزایش دما ویسکوزیته ماده مذاب کاهش یافته و انبساط طولی افزایش می‌یابد درحالی که کاهش الاستیسیته باعث کاهش انبساط شعاعی می‌شود. بنابراین کاهش یافتن دانسیته توده اسنک در دمای بالای 145 درجه سانتی‌گراد احتمالاً به دلیل افزایش انبساط طولی فراورده می‌باشد. با افزایش رطوبت خوراک، دانسیته توده افزایش یافت (شکل 2، ب).

رطوبت باعث کاهش الاستیسیته شده و ژلاتینه شدن نشاسته را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Korkerd et al, 2016; Thymi et al, 2005). افزایش رطوبت سبب کاهش دمای محفظه می‌شود. دمای پایین فرایند منجر به کاهش میزان ژلاتینه شدن می‌شود که در نهایت باعث کاهش میزان انبساط و افزایش دانسیته توده فراورده اکستروود شده می‌گردد (Ding et al, 2006). با افزایش میزان تفاله هویج، دانسیته توده افزایش یافت که این امر به دلیل افزایش میزان فیبر در خوراک می‌باشد (شکل 2، الف). فیبر باعث پاره شدن سلول‌های هوا می‌گردد (Liu et al, 2000) و توانایی انبساط محصول را محدود می‌کنند. بنابراین، دانسیته توده افزایش می‌یابد. اثرات مشابه فیبر برای آرد ذرت و تفاله آناناس اکستروود شده (Selani et al, 2014)، مخلوط آرد جو و تفاله انگور (Altan et al, 2008)، آرد جو و تفاله گوجه‌فرنگی (Altan et al, 2008) و همچنین ذرت و فیبر چغندرقد (Lue et al, 1994) مشاهده شده است.

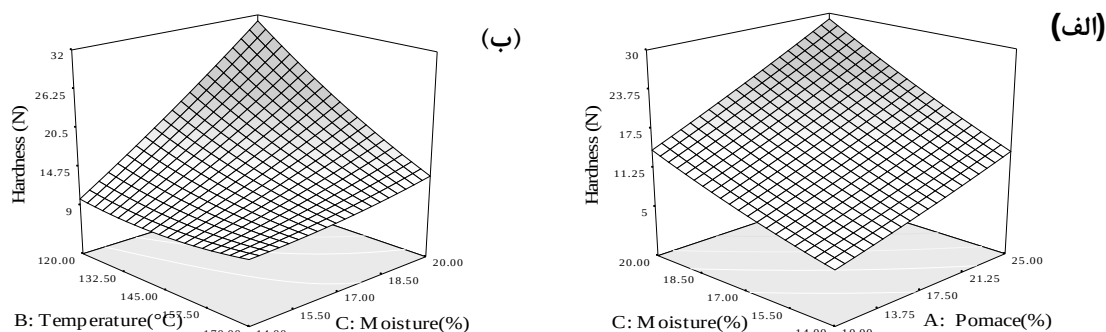


شکل 2- نمودار سطح پاسخ برای اثر متغیرهای اکستروژن بر دانسیته توده (الف) اثر دما و تفاله در رطوبت 17 درصد (ب) اثر رطوبت و تفاله در دمای 145 درجه سانتی گراد.

سختی

سختی، بیشترین نیروی مورد نیاز پروپ برای نفوذ به داخل نمونه می‌باشد. هرچه میزان بیشینه نیرو بیشتر باشد، میزان سختی نیز بیشتر است (Ding et al, 2005). افزایش رطوبت باعث افزایش سختی شد (شکل 3، الف). رطوبت از عوامل اصلی تأثیرگذار بر دانسیته توده و انبساط می‌باشد. محصولی با دانسیته بالا دیواره سلولی ضخیم دارد که به‌طور مستقیم با سختی محصول اکستروژن شده مرتبط می‌باشد (Yuliani et al, 2006). بنابراین به دلیل افزایش دانسیته توده و کاهش انبساط، سختی فراورده نهایی افزایش یافت. سختی محصول با افزایش دما کاهش یافت (شکل 3، ب) که با نتایج Altan و همکاران (2008) برای مخلوط آرد جو و تفال

گوجه‌فرنگی مطابقت داشت. دمای بالا باعث کاهش ویسکوزیته مذاب می‌شود که منجر به رشد بیشتر حباب‌ها و کاهش ضخامت دیواره حباب‌ها می‌گردد، هرچند که تعدادی از حباب‌ها در دمای بالا متلاشی می‌شوند. این امر باعث کاهش دانسیته توده و سختی محصول می‌گردد. با افزایش مقدار تفال هویج میزان سختی افزایش یافت (شکل 3، الف). فیبرها باعث پارگی زودرس در حباب‌های هوا می‌شوند. این امر به دلیل تأثیر فیبر بر ضخامت دیواره سلول می‌باشد (Stojceska et al, 2008). بنابراین تفال هویج منجر به افزایش سختی فراورده نهایی می‌گردد. نتایج مشابهی توسط Mendonça و همکاران (2000)، Yanniotis و همکاران (2007) برای سبوس ذرت، پکتین - سبوس گندم گزارش شده است.

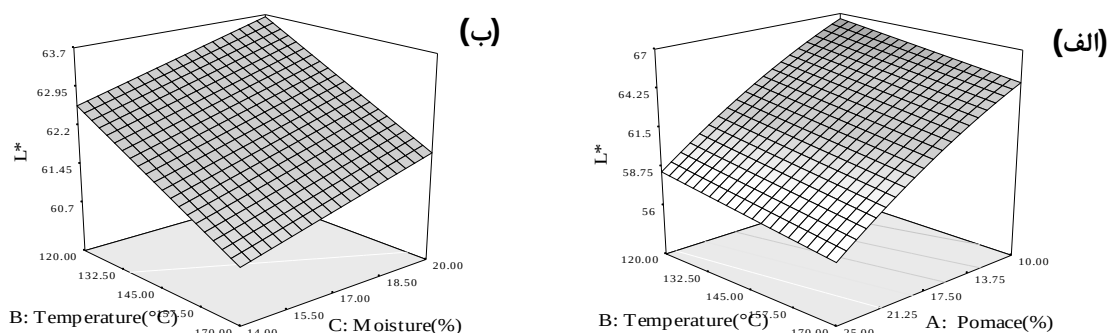


شکل 3- نمودار سطح پاسخ برای اثر متغیرهای اکستروژن بر سختی (الف) اثر متقابل تفال رطوبت در دمای 145 درجه سانتی گراد (ب) اثر متقابل رطوبت- دما در سطح تفال 17/5 درصد.

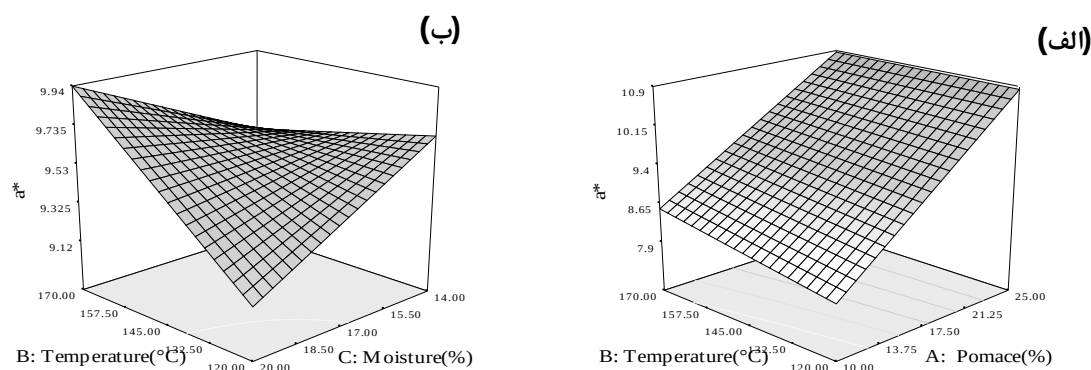
رنگ

افزایش تفال هویج و دما باعث کاهش میزان روشنایی (شاخص L^*) و افزایش قرمزی فراورده (شاخص a^*) شد (شکل 4، الف و 5،

الف). این امر به دلیل واکنش‌های قهوه‌ای شدن (میلارد و کاراملیزاسیون) که در دمای بالا و در حضور قندها رخ می‌دهد، می‌باشد (Selani et al, 2014).



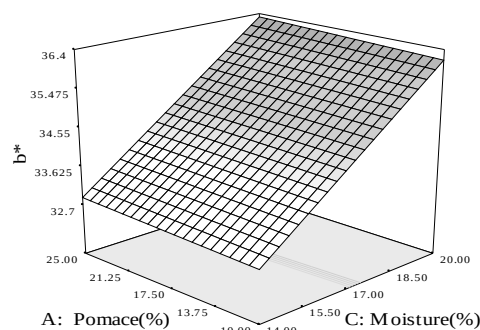
شکل 4- نمودار سطح پاسخ برای اثر متغیرهای اکستروژن بر L^* (الف) اثر تفال و دما در رطوبت 17 درصد (ب) اثر رطوبت و دما در سطح تفال 17/5 درصد.



شکل 5- نمودار سطح پاسخ برای اثر متغیرهای اکستروژن بر a^* (الف) اثر تفاله و دما در رطوبت 17 درصد (ب) اثر متقابل رطوبت - دما در سطح تفاله 17/5 درصد.

(a^*) کاهش یافت (شکل 4، ب، 6، الف و 5، ب) که به دلیل کاهش واکنش قهوه‌ای شدن می‌باشد. Yağci و همکاران (2009) گزارش کردند که افزایش میزان رطوبت شاخص قرمزی را کاهش می‌دهد و همچنین Liu و همکاران (2000) افزایش شاخص زردی را با افزایش میزان رطوبت بیان کردند.

کاهش روشنایی با افزایش تفاله هویج به دلیل وجود قند در تفاله می‌باشد که باعث ایجاد واکنش‌های قهوه‌ای شدن می‌گردد. نتایج مشابه در مورد فراورده اکستروژن شده تفاله آناناس (Selani et al, 2014) و انگور (Altan et al, 2008) نیز مشاهده شد. با افزایش رطوبت، میزان روشنایی (L^*)، زردی (b^*) افزایش و قرمزی فراورده

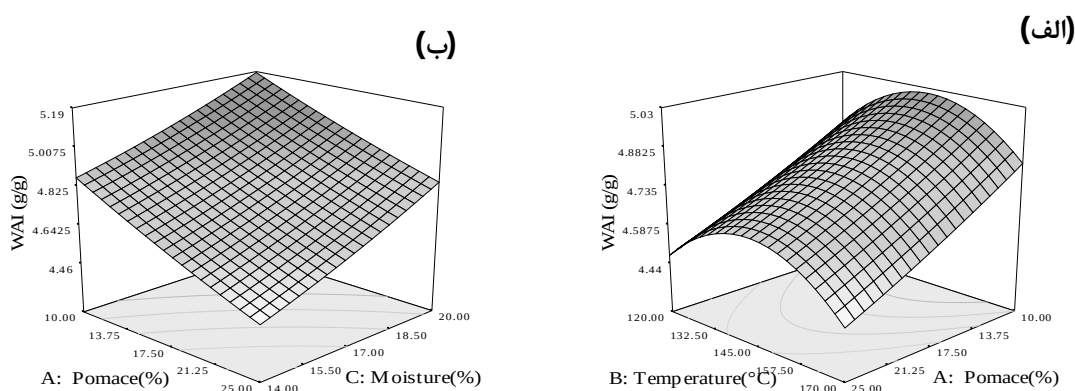


شکل 6- نمودار سطح پاسخ برای اثر متغیرهای اکستروژن بر b^* ، اثر رطوبت در دمای 145 درجه سانتی گراد.

محققان بیان داشتند که علت کاهش یافتن WAI در دماهای بالا، دکسترینه شدن نشاسته می‌باشد. با افزایش رطوبت میزان WAI افزایش یافت (شکل 7، ب). در رطوبت‌های پایین پلیمر در طی اکستروژن بیشترین آسیب را دیده که در نهایت منجر به کاهش WAI می‌گردد (Selani et al, 2014). با افزایش مقدار تفاله هویج WAI کاهش یافت (شکل 7، الف). این امر به دلیل کاهش محتوی نشاسته در اثر اضافه کردن تفاله و رقابت در جذب آب بین نشاسته و تفاله می‌باشد (Altan et al, 2008).

شاخص جذب آب (WAI)

WAI، حجم اشغال شده گرانول‌ها یا نشاسته‌های متورم شده را اندازه‌گیری می‌کند (Sriburi et al, 2000; Altan et al, 2008). به بیان دیگر شاخص ژلاتینه شدن نشاسته می‌باشد (Anderson et al, 1970; Selani et al, 2014). همانطور که در شکل 7، الف مشاهده می‌شود تا دمای 145 درجه سانتی‌گراد ابتدا WAI افزایش و سپس کاهش یافت که نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های Owusu-Ansah و همکاران (1983) برای نشاسته ذرت مشابه بود. این

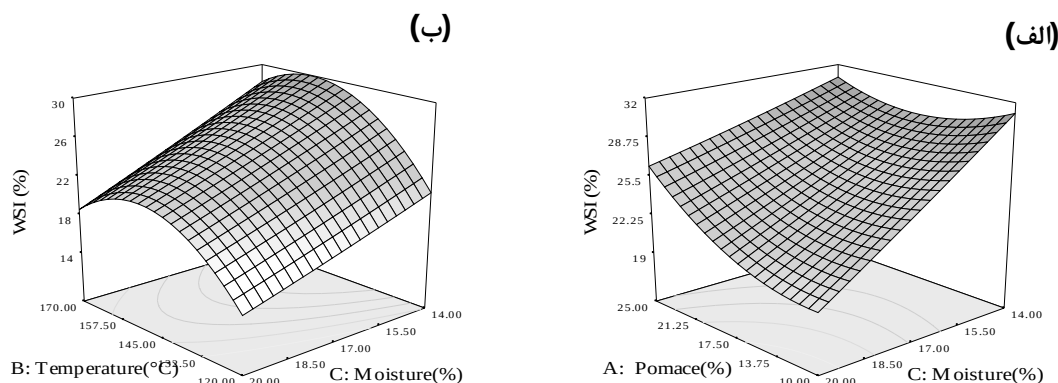


شکل 7- نمودار سطح پاسخ برای اثر متغیرهای اکستروژن بر WAI (الف) اثر تفاله و دما در رطوبت 17 درصد (ب) اثر رطوبت و تفاله در دمای 145 درجه سانتی گراد.

فراورده اکستروژن شده گردید (شکل 8، الف) که ممکن است به دلیل اصلاح فیبر تفاله، در طی اکستروژن باشد (Hashimoto *et al*, 2003). طی فرآیند اکستروژن، SDF به دلیل تغییر فرم دادن مقداری از IDF به SDF، افزایش می‌یابد (Vasanthan *et al*, 2002). بنابراین، حضور مواد محلول در تفاله منجر به افزایش WSI می‌گردد. نتایج Huang و همکاران (2016) نشان داد که همبستگی مثبتی بین WSI و SDF وجود دارد به‌طوری‌که افزایش SDF باعث افزایش WSI می‌شود.

شاخص حلالیت در آب (WSI)

WSI میزان تبدیل اجزای نشاسته به پلی‌ساکاریدهای محلول آزاد شده طی اکستروژن را اندازه‌گیری می‌کند (Kirby *et al*, 1989; Ding *et al*, 2005). مولکول‌های محلول در آب علاوه بر نشاسته ممکن است از دیگر اجزا از جمله فیبرها و پروتئین طی دنا‌توراسیون تولید شود (Selani *et al*, 2014). براساس پژوهش Brennan و همکاران (2013)، طی فرآیند اکستروژن حلالیت فیبرهای رژیمی افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده پتانسیل اکستروژن در تغییر ساختار مولکول‌ها می‌باشد. افزایش سطح تفاله هویج منجر به افزایش WSI



شکل 8- نمودار سطح پاسخ برای اثر متغیرهای اکستروژن بر WSI (الف) اثر متقابل رطوبت - تفاله در دمای 145 درجه سانتی گراد (ب) اثر رطوبت و دما در سطح تفاله 17/5 درصد.

نتیجه باعث افزایش WSI می‌شود (Ding *et al*, 2005). مقداری نشاسته در طول اکستروژن دکسترینه می‌شود بنابراین در افزایش یافتن WSI می‌تواند تأثیرگذار باشد (Altan *et al*, 2008). کاهش WSI در دماهای بالاتر ممکن است به دلیل برهمکنش مولکولی بین

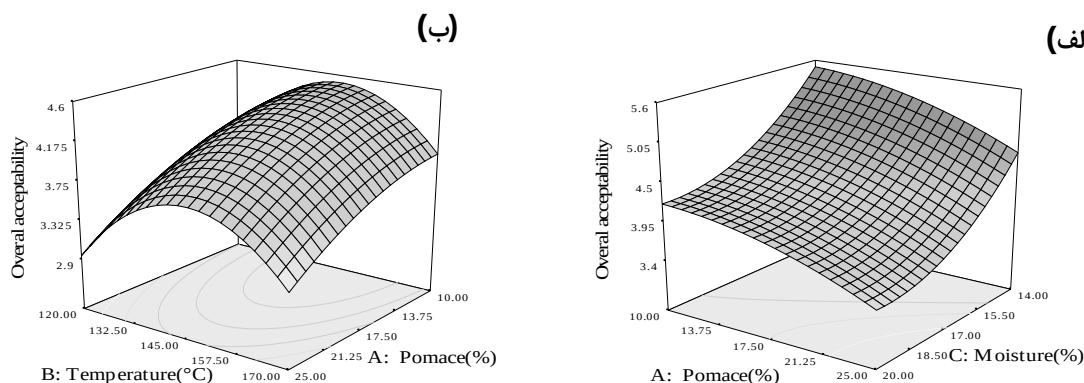
WSI مخلوط اکستروژن شده آرد جو و تفاله هویج با افزایش دما تا 145 درجه سانتی‌گراد افزایش و سپس کاهش یافت (شکل 8، ب). افزایش دمای محفظه، درجه ژلاتینه شدن نشاسته را افزایش می‌دهد. در حین ژلاتینه شدن، مقدار نشاسته محلول افزایش می‌یابد که در

نشاسته تخریب شده، پروتئین، فیبر و لیپید باشد و کمپلکس تشکیل شده وزن مولکولی بیشتر دارد که باعث کاهش WSI در دماهای بالاتر می شود (Altan et al, 2008). نتایج مشابه در سیب زمینی هندی اکستروود شده (Sebio & Chang, 2000)، فراورده اکستروود شده جو و تفالۀ گوجه فرنگی (Altan et al, 2008) و جو و تفالۀ انگور (Altan et al, 2008) مشاهده شد. Gomez و همکاران (1983) بیان کردند که مکانیسم غالب تخریب نشاسته در رطوبت های پایین دکسترینه شدن می باشد. بنابراین، انتظار می رود محصولات اکستروود شده در رطوبت های پایین به دلیل دکسترینه شدن نشاسته، WSI بالاتری داشته باشد، که با نتایج شکل 8، ب مطابقت داشت.

آزمون حسی

با افزایش تفالۀ هوپج به دلیل سفت تر شدن بافت و کاهش نسبت

انبساط اسنک های اکستروود شده و همچنین به دلیل تیره تر شدن رنگ اسنک ها میزان پذیرش کلی کاهش یافت (شکل 9، الف). با افزایش دما تا 145 درجه سانتی گراد میزان پذیرش کلی افزایش و سپس کاهش یافت (شکل 9، ب). افزایش پذیرش کلی تا دمای 145 درجه سانتی گراد به دلیل افزایش انبساط محصولات اکستروود شده و کاهش سختی می باشد و با افزایش دما به دلیل ایجاد طعم سوختگی در اسنک میزان پذیرش کلی کاهش یافت. با افزایش رطوبت خوراک میزان پذیرش از طرف ارزیابان کاهش یافت (شکل 9، ب). رطوبت باعث کاهش اثر دمای بر سیال داخل اکستروود شده در نتیجه میزان پخت ماده اولیه کاهش می یابد و این باعث افزایش سختی و کاهش انبساط فراورده نهایی شد به همین دلیل میزان پذیرش کلی کاهش یافت.



شکل 9- نمودار سطح پاسخ برای اثر متغیرهای اکستروژن بر پذیرش کلی (الف) اثر تفالۀ و دما در رطوبت 17 درصد (ب) اثر تفالۀ و رطوبت در دمای 145 درجه سانتی گراد.

بعد از اکستروژن برابر بود.

جدول 3- ترکیبات محصول بهینه در شرایط قبل و بعد از اکستروژن

برمبنای ماده خشک (میانگین $\pm$ انحراف معیار)		
ترکیبات (%)	اکستروود نشده	اکستروود شده
پروتئین	9/18 $\pm$ 0/03	9/31 $\pm$ 0/04
چربی	2/98 $\pm$ 0/42	1/88 $\pm$ 0/36
خاکستر	2 $\pm$ 0/11	2/1 $\pm$ 0/29
TDF	12/87 $\pm$ 0/28	12/98 $\pm$ 0/47
SDF	7/63 $\pm$ 0/46	9/27 $\pm$ 0/06
IDF	5/24 $\pm$ 0/12	3/71 $\pm$ 0/44

افزایش SDF تا حدودی به دلیل شکسته شدن پیوندهای کووالانسی و غیر کووالانسی بین کربوهیدرات و پروتئین های فیبر که

بهینه یابی

در این پژوهش، هدف از بهینه سازی رسیدن به محصولی با ویژگی های مطلوب می باشد. نتایج حاصل از بهینه یابی فرمولاسیون، شامل مقدار تفالۀ هوپج 10 درصد، دما 148 درجه سانتی گراد و میزان رطوبت خوراک 15/49 درصد، بیشترین مقدار نسبت انبساط (296/1)، L^* (65/087)، WAI (4/931) و پذیرش کلی (4/502)، کمترین مقدار دانسیته توده (1/22) و سختی (6/756) تعیین گردید.

ویژگی های شیمیایی اسنک اکستروود شده

اکستروژن تأثیری بر میزان پروتئین و خاکستر نداشت، اما مقدار چربی کاهش یافت (جدول 3)، در طی اکستروژن میزان SDF از 7/63 به 9/27 افزایش و میزان IDF از 5/24 به 3/71 کاهش یافت (جدول 3). در جدول 3 صرف نظر از تفاوت در IDF و SDF بین نمونه های اکستروود شده و نشده، TDF (مجموع SDF و IDF) قبل و

کردن حباب‌ها مانع انبساط و در نتیجه افزایش دانسیته توده اسنک‌ها شد. بنابراین در پی افزایش دانسیته توده، سختی محصول اکستروژن افزایش یافت. جذب آب شاخصی از ژلاتینه شدن نشاسته می‌باشد و از آنجایی که ژلاتینه شدن نیز تحت تأثیر دما و رطوبت است، بنابراین افزایش دمای اکستروژن تا 145 درجه سانتی‌گراد باعث افزایش شاخص جذب آب شد. رطوبت مانع تخریب نشاسته در طی پخت می‌شود بنابراین با افزایش رطوبت، میزان جذب آب افزایش یافت. از دیگر ویژگی‌های مهم اسنک شاخص روشنایی می‌باشد که در دما و سطح تقاله پایین و همچنین رطوبت بالا بیشترین روشنایی حاصل شد. در بررسی خصوصیات حسی، اسنک‌های تولید شده در دمای 145 درجه سانتی‌گراد و کمترین میزان رطوبت و تقاله بیش‌ترین پذیرش کلی را نشان داد. با توجه به نتایج بهینه‌سازی اسنک حاوی پودر تقاله هویج با ویژگی‌های عملکردی مناسب شامل 10 درصد تقاله هویج، دمای اکستروژن 148 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 15/49 درصد بود.

منجر به ایجاد مولکول‌های کوچک محلول می‌شود (Larrea et al, 2005). علاوه‌براین در طی اکستروژن مقداری فیبرهای رژیمی نامحلول به محلول توسط واکنش ترانس گلیکوزیداسیون (تشکیل پیوند گلیکوزیدی) تبدیل می‌شود که ترکیبات آنهیدرو از نشاسته یا نشاسته‌های جداشده از گلوکان طی فرآیند اکستروژن تولید می‌شود که در برابر هیدرولیز آمیلاز مقاوم هستند (Vasanthan et al, 2002).

نتیجه‌گیری

از مهم‌ترین پارامترها در ارزیابی اسنک‌ها، میزان انبساط می‌باشد که در این پژوهش بیش‌ترین میزان انبساط در دمای 145 درجه سانتی‌گراد و پایین‌ترین مقدار تقاله هویج و رطوبت حاصل شد. دمای اکستروژن نقش مهمی در تغییر ویژگی‌های رئولوژیکی سیال دارد و بر رشد حباب‌ها مؤثر است، افزایش رطوبت و همچنین تقاله با فشرده

منابع

- خزین، ز.، احمدزاده قویدل، ر.، و کریمی، م. 1393. بررسی بافت و خصوصیات حسی اسنک حاوی پوره توت فرنگی. اولین همایش ملی میان وعده های غذایی. مشهد مقدس، 10 و 11 اردیبهشت.
- AACC. (2000). Approved methods of the American association of cereal chemists. 10th ed. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists.
- Altan, A., McCarthy, K. L., & Maskan, M. (2008a). Evaluation of snack foods from barley – tomato pomace blends by extrusion processing. *Journal of Food Engineering*, 84, 231–242.
- Altan, A., McCarthy, K. L., & Maskan, M. (2008b). Twin-screw extrusion of barley – grape pomace blends : Extrudate characteristics and determination of optimum processing conditions. *Journal of Food Engineering*, 89, 24–32.
- Alu'datt, M., Rababah, T., Ereifej, K., Alli, I., Alrababah, M. A., Almajwal, A., & Alhamad, M. N. (2012). Effects of barley flour and barley protein isolate on chemical, functional, nutritional and biological properties of Pita bread. *Food Hydrocolloids*, 26, 135–143.
- Anderson, R. A., Conway, H. F., Peplinski, A. J., Peoria, & Illinois. (1970). Gelatinization of Corn Grits by Roll Cooking , Extrusion Cooking and Steaming. *Starch Science*, 4, 2–7.
- AOAC. (2000). Official methods of analysis 18th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Brennan, M. A., Derbyshire, E., Tiwari, B. K., & Brennan, C. S. (2013). Invited review Ready-to-eat snack products : the role of extrusion technology in developing consumer acceptable and nutritious snacks. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 893–902.
- Caltinoglu, C., Tonyali, B., & Sensoy, I. (2013). Original article Effects of tomato pulp addition on the extrudate quality parameters and effects of extrusion on the functional parameters of the extrudates. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 587–594.
- Chang, C., Yang, C., Samanros, A., & Lin, J. (2015). Collet and cooking extrusion change the soluble and insoluble b - glucan contents of barley. *Journal of Cereal Science*, 66, 18–23.
- Chanvriat, H., Uthayakumaran, S., & Lillford, P. 2007. Rheological properties of wheat flour processed at low levels of hydration : Influence of starch and gluten. *Journal of Cereal Science*, 45: 263–274.
- Chau, C. F., Chen, C. H., & Lee, M. H. (2004). Comparison of the characteristics, functional properties, and in vitro hypoglycemic effects of various carrot insoluble fiber-rich fractions. *LWT- Food Science and Technology*, 37(2), 155–160.
- Dehghan-shoar, Z., Hardacre, A. K., & Brennan, C. S. (2010). The physico-chemical characteristics of extruded snacks enriched with tomato lycopene. *Food Chemistry*, 123(4), 1117–1122.
- Ding, Q., Ainsworth, P., Plunkett, A., Tucker, G., & Marson, H. (2006). The effect of extrusion conditions on the functional and physical properties of wheat-based expanded snacks. *Journal of Food Engineering*, 73, 142–148.
- Ding, Q., Ainsworth, P., Tucker, G., & Marson, H. (2005). The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. *Journal of Food Engineering*, 66, 283–289.
- Fletcher, S. I., Richmond, P., & Smith, A. C. (1985). An Experimental Study of Twin-Screw Extrusion- Cooking of

- Maize Grits. *Journal of Food Engineering*, 4, 291–312.
- Gomez, M. H., & Aguilera, J. M. (1984). A Physicochemical Model for Extrusion of Corn Starch. *Journal of Food Science*, 49.
- Harper, J.M. (1981). Extrusion of Foods. *Journal of Food Science*, 68, 1669–1672.
- Hashemi, N. Milani, E., Mortazavi, S.A. Tabatabai, F.(2017). Microstructural and textural properties of puffed snack prepared from partially defatted almond powder and corn flour. *Journal of Food Processing and Preservation*. 41 (5): 1-12.
- Hashimoto, J. M., & Grossmann, M. V. E. (2003). Effects of extrusion conditions on quality of cassava bran / cassava starch extrudates. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 511–517.
- Huang, Y., & Ma, Y. (2016). The effect of extrusion processing on the physiochemical properties of extruded orange pomace. *Food Chemistry*, 192, 363–369.
- Ilo, S., Liu, Y., & Berghofer, E. (1999). Extrusion Cooking of Rice Flour and Amaranth Blends. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*, 32, 79–88.
- Kaisangsri, N., Kowalski, R. J., Wijesekara, I., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N., & Ganjyal, G.M.2016. Carrot pomace enhances the expansion and nutritional quality of corn starch extrudates. *LWT - Food Science and Technology*, 68: 391–399.
- Kirby, A. R., Ollett, A. L., Parker, R., & Smith, A. C. (1989). An Experimental Study of Screw Configuration Effects in the Twin-Screw Extrusion-Cooking of Maize Grits. *Journal of Food Engineering*, 8, 247–272.
- Korkerd, S., Wanlapa, S., Puttanlek, C., & Uttapap, D. (2016). Expansion and functional properties of extruded snacks enriched with nutrition sources from food processing by-products. *J Food Sci Technol*, 53, 561–570.
- Larrea, M. A., Chang, Y. K., & Martinez-bustos, F. (2005). Some functional properties of extruded orange pulp and its effect on the quality of cookies. *LWT - Food Science and Technology*, 38, 213–220.
- Li, H., Long, D., Peng, J., Ming, J., & Zhao, G. (2012). A novel in - situ enhanced blasting extrusion technique — Extrudate analysis and optimization of processing conditions with okara. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 80–88.
- Liu, Y., Hsieh, F., Heymann, H., & HUuff, H. E. (2000). Effect of Process Conditions on the Physical and Sensory Properties of Extruded Oat – Corn Puff. *Journal of Food Science*, 65, 7.
- Lue, S., Hsieh, F., & Huff, H. E. (1994). Modeling of Twin-Screw Extrusion Cooking of Corn Meal and Sugar Beet Fiber Mixtures. *Journal of Food Engineering*, 21, 263–289.
- Mendonça, S., Grossmann, M. V. E., & Verhe, R. (2000). Corn Bran as a Fibre Source in Expanded Snacks. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*, 33, 2–8.
- Owusu-Ansah, J., Voort, F. R., & Stanley, D. W. (1983). Physicochemical Changes in cornstarch as a Function of Extrusion Variables.
- Potter, R., Stojceska, V., & Plunkett, A. (2013). The use of fruit powders in extruded snacks suitable for Children's diets. *LWT - Food Science and Technology*, 51, 537-544.
- Rathod, R. P., & Annapure, U. S. (2016). Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 114–123.
- Sebio, L., & Chang, Y. K. (2000). Effects of selected process parameters in extrusion of yam flour (*Dioscorea rotundata*) on physicochemical properties of the extrudates. *Nahrung*, 44(2), 96–101.
- Selani, Mabel, M., Guidolin, S., Brazaca, C., Tadeu, C., Ratnayake, W. S., Flores, R. A., & Bianchini, A. (2014). Characterisation and potential application of pineapple pomace in an extruded product for fibre enhancement. *Food Chemistry*, 163, 23–30.
- Serena, B.K. (2007). Chemical and physic-chemical characterisation of co-products from vegetable food and agro industries. *Journal of Animal Feed Science Technology*, 139, 109-124.
- Shafiq Alam, M.D., & Kumar, S. (2014). Optimization of Extrusion Process Parameters for Red Lentil-carrot Pomace Incorporated Ready-to-eat Expanded Product Using Response Surface. *Food Science and Technology*, 2(7):106-119.
- Shafiq, M., Pathania, S., & Sharma, A. (2016). Optimization of the extrusion process for development of high fi bre soybean-rice ready-to-eat snacks using carrot pomace and cauli flower trimmings. *LWT - Food Science and Technology*, 74, 135–144.
- Sriburi, P., & Hill, S. E. (2000). Extrusion of cassava starch with either variations in ascorbic acid concentration or pH. *International Journal of Food Science and Technology*, 35, 141–154.
- Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., & Ibanog, E. (2008). Cauliflower by-products as a new source of dietary fibre , antioxidants and proteins in cereal based ready-to-eat expanded snacks. *Journal of Food Engineering*, 87, 554–563.
- Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., & Ibanoglu, S. (2010). The advantages of using extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten free products. *Food Chemistry*, 121, 156-164.
- Thymi, S., Krokida, M. K., Pappa, A., & Maroulis, Z. B. (2005). Structural properties of extruded corn starch. *Journal of Food Engineering*, 68, 519–526.

- Vasanthan, T., Gaosong, J., Yeung, J., & Li, J. (2002). Dietary fiber profile of barley flour as affected by extrusion cooking. *Food Chemistry*, 77, 35–40.
- Yağci, S., & Göğüş, F. (2009). Development of extruded snack from food by-products: a response surface analysis. *Journal of Food Process Engineering*, 32, 565–586.
- Yanniotis, S., Petraki, A., & Soumpasi, E. (2007). Effect of pectin and wheat fibers on quality attributes of extruded cornstarch. *Journal of Food Engineering*, 80, 594–599.
- Yuliani, S., Torley, P. J., Arcy, B. D. Ö., Nicholson, T., & Bhandari, B. (2006). Extrusion of mixtures of starch and D - limonene encapsulated with b -cyclodextrin : Flavour retention and physical properties, 39, 318–331.
- Wenwen, Y., Xinle, T., Wei, Z., Zhenxia, H., Glen, P. F., Michael, J.G., & Robert, G.G. (2017). Relationships between protein content, starch molecular structure and grain size in barley. *Carbohydrate Polymers*. 155, 271–279.



Effect of feed mixture and extrusion temperature on physicochemical and sensory properties of barley flour- carrot pomace snack

S. lotfi Shirazi¹, A. Koocheki², E. Milani³, M. Mohebbi²

Received: 2017.11.11

Accepted: 2018.06.12

Introduction: Snack foods have become an important part of the people's diets. During last decade demands for utilization of fruit and vegetable waste in order to their dietary fibers in value added food products has been increased. Carrot pomace is rich in dietary fiber that contains important functional and nutritional properties. Barley contains a high amount of dietary fiber, especially soluble fiber, which has essential role in reducing blood cholesterol level.

Materials and methods: In this project based on Central Composite Design, the effect of independent variables containing extrusion temperature (120-170 °C), moisture content (14-20%) and carrot pomace level (10-25%) were evaluated on expansion ratio, bulk density, WAI, WSI, hardness, color snacks were evaluated by panelists in terms of acceptance or non-acceptance.

Results and discussion: Results expressed that expansion ratio, lightness, total acceptability and WAI decreased by increasing the amount of carrot pomace. Reduction of expansion ratio and WSI and improvement of lightness and WAI were shown as increased in moisture levels. The hardness and bulk density decreased with an increase in temperature. When temperature increased up to 145°C, expansion ratio, lightness, WAI and WSI increased and decreased thereafter. The optimum conditions for barley flour-carrot pomace snack were determined at the maximum expansion ratio, L*, WAI and overall acceptability with minimum bulk density and hardness in a snack. The optimum condition provides the highest value of expansion ratio 296.1 (%), L* 65.087, WAI 4.931 (g/g) and overall acceptability 4.502 with lowest bulk density 1.22 (g/cm³) and hardness 6.756 (N). Accordingly, the optimum conditions for the snack are 10% carrot pomace, 148°C die temperature and 15.49% moisture. The approximate composition of the snack extruded and unextruded obtained under the optimal conditions. Extrusion did not affect the protein and ash contents but it decreased the fat content of snack. During the extrusion, the SDF increased from 7.63 to 9.27 g/100g while the IDF decreased from 5.24 to 3.71 g/100g. Extrusion cooking did not affect the TBG content in barley flour-carrot pomace snack. Extrusion cooking resulted in the conversion of insoluble to soluble fiber and well balance of both types of the fiber

Keywords: Extrusion Cooking, Optimization, Dietary Fiber, Barley Flour, Carrot Pomace.

1. MSc student, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.
2. Professor, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.
3. Assistant Professor, Iranian Academic Center for Education Culture and Research (ACECR), Mashhad, Iran.
(* Corresponding author E-mail: koocheki@um.ac.ir)



تولید و بهینه‌سازی ویژگی‌های نانوکامپوزیت زیست‌تخریب‌پذیر کیتوزان/نانوفیبر آلای حاوی اسانس‌های مرزنجوش بخارایی و زنیان و کاربرد آن بر پایداری اکسیداتیو روغن کلزا

عیسی جاهد^{1*}، هادی الماسی²، محمد علیرزاده خالدآباد³

تاریخ دریافت: 1396/12/06

تاریخ پذیرش: 1397/04/03

چکیده

در پژوهش حاضر به طراحی و تولید یک بسته بندی فعال آنتی‌اکسیدانی / ضد میکروبی بر پایه بیوپلیمر کیتوزان پرداخته شد که در آن از نانوفیبر لیگنوسلولز (LCNF) و نانوفیبر سلولز (CNF) در غلظت 4% به عنوان تقویت کننده ویژگی‌های بیوپلیمر و همچنین به منظور کنترل رهاش ترکیبات اسانس مرزنجوش و زنیان در غلظت 5% (به عنوان ماده آنتی‌اکسیدان / ضد میکروبی) از ماده بسته بندی به داخل ماده غذایی، استفاده شد. نتایج نشان داد افزودن اسانس ها به صورت ترکیبی تاثیر قابل توجهی بر تغییرات بلورینگی و خواص حرارتی فیلم ها نداشت، در حالیکه نانوتقویت کننده های آلی سبب افزایش خاصیت کریستالی و افزایش مقاومت حرارتی فیلم های نانوکامپوزیت گردید. با به کار بردن اسانس و نانوتقویت کننده های CNF و LCNF در ساختار فیلم ها، شفافیت و در نتیجه میزان عبور نور از فیلم های فعال نسبت به نمونه کنترل کاهش یافت. افزودن اسانس ها به طور جداگانه و ترکیبی و همچنین نانوتقویت کننده های آلی در ساختار فیلم ها، سبب کاهش معنی داری در میزان حلالیت و نفوذپذیری کامپوزیت ها نسبت به فیلم خالص کیتوزان گردید. با افزودن حالت ترکیبی دو اسانس با نسبت 50:50، استحکام کششی (UTS) و کرنش تا نقطه شکست (STB) افزایش یافت، در حالیکه نانوفیبر های آلی منجر به افزایش UTS و کاهش قابل توجهی در مقدار STB نانوکامپوزیت ها گردید. همچنین مشخص شد که فیلم های فعال حاوی نسبت های مختلف اسانس دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی بوده و خاصیت ضد میکروبی بالایی علیه باکتری های / شریشپاکی O157:H و باسیلوس سرئوس داشتند که با افزودن CNF و LCNF به دلیل نقش کنترل کنندگی توسط نانوفیبر ها، از این ویژگی ها کاسته شد. با بهینه سازی عددی نرم افزار، مقدار بهینه برای اسانس های زنیان و مرزنجوش به ترتیب 2/29 و 2/71 درصد (مخلوط 5%) در ترکیب با نانوتقویت کننده LCNF به دست آمد. نتایج پایداری اکسایشی روغن کلزا نشان داد که نانوکامپوزیت بهینه و کامپوزیت فعال آن، به طور قابل توجهی قادر بودند تازگی روغن را در طول نگهداری در دمای محیط حفظ کنند و اکسیداسیون روغن را به تاخیر اندازند.

واژه‌های کلیدی: نانوکامپوزیت، زنیان، مرزنجوش، روغن کلزا، نانوفیبر لیگنوسلولز.

مقدمه

پلی ساکاریدی است که از استیل زدایی کیتین تهیه می شود. این پلیمر کاتیونی، از نظر فراوانی در طبیعت دومین پلی ساکارید مهم بعد از سلولز می باشد. ثابت شده است که کیتوزان یک ماده غیرسمی، زیست تجزیه پذیر⁴، زیست سازگار⁵ و نیز دارای اثر ضد میکروبی است (Celebi and Kurt, 2007). کیتوزان در آب نامحلول است و تولید یک فیلم شفاف می کند که می تواند به عنوان پوشش و فیلم در مواد غذایی استفاده شود (Dashipour et al, 2009).

امروزه در راستای حذف و یا کاهش ترکیبات شیمیایی و سنتزی در مواد غذایی، تحقیقات زیادی برای جایگزین کردن مواد شیمیایی با ترکیبات طبیعی انجام شده است. استفاده از بسته بندی های فعال حاوی اسانس های روغنی، روش نوینی برای نگهداری مواد غذایی

در عصر حاضر، آلودگی های شیمیایی ناشی از وارد شدن مواد بسته بندی سنتزی در طبیعت، از خطرات بزرگی است که زندگی بشر را تهدید می کند، به طوریکه بیش از نیمی از زباله های شهروندان در کشورهای صنعتی را مواد بسته بندی تشکیل می دهد (بقایی و همکاران، 1391). یک راهکار مناسب برای حل مشکلات زیست محیطی ناشی از تجمع ضایعات پلاستیکی، می تواند بهره گیری از پلیمر های زیست تخریب پذیر از جمله کیتوزان باشد. کیتوزان،

1. 2 و 3- به ترتیب دانش آموخته دکترا، استادیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

(*) - نویسنده مسئول: Email: Jahed65@gmail.com

DOI: 10.22067/iftstr.v14i5.71229

⁴ Biodegradable

⁵ Biocompatible

تازه که متحمل کمترین فرایند شده‌اند و حاوی کمترین افزودنی هستند، می‌باشد و در سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای برای تولید و اقتصادی کردن آن انجام شده است (Abdollahi et al., 2012). استفاده از فیلم‌های خوراکی به‌منظور حمل اسانس‌های گیاهی می‌تواند منجر به کاهش مقدار مورد نیاز اسانس در اثر انکسوله شدن در شبکه پلیمری شود، لذا منجر به کاهش تاثیر منفی احتمالی اسانس مانند آرومای شدید و تغییرات ارگانولپتیکی (نسبت به حالت افزودن مستقیم اسانس به ماده غذایی) می‌شود (López-Mata et al., 2013).

گیاه مرزنجوش با نام علمی *Origanum vulgare* از خانواده نعنائیان است که شامل سه زیر گونه *Vulgare*، *gracile* و *Viride* می‌باشد. واریته *gracile* تحت عنوان مرزنجوش بخارایی، بومی ایران به‌خصوص نواحی شمال غرب (کردستان و آذربایجان غربی) است. گونه‌های گیاه مرزنجوش حاوی 1-1/5 درصد اسانس روغنی است (Moradi et al., 2015). مرزنجوش از مهمترین منابع گیاهی دارای آنتی‌اکسیدان‌های فنلی است و به‌طور کلی بسیاری از مطالعات انجام گرفته فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی و ضدباکتریایی گونه‌های مرزنجوش را تایید می‌کند که این اثر را به ترکیبات عمده اسانس روغنی این گیاه شامل کارواکرول، تیمول و گاما ترپنین که ساختارهای فنلی مونوترپنئیدی هستند، نسبت می‌دهند (Kalemba and Kunicka, 2003). زنیان نیز با نام علمی *Carum copticum* یک گیاه یکساله از خانواده چتریان است که در کشورهای ایران، هند و مصر با گل‌های سفید و کوچک و بذره‌های قهوه‌ای روشن رشد می‌کند. از زنیان به‌صورت خوراکی به‌عنوان ضد درد، ضد آسم، ضد تهوع و خلط‌آور و به‌صورت موضعی در درمان دردهای روماتیسمی استفاده می‌شود (Khajeh et al., 2004). بیشترین میزان اسانس گیاه در میوه (بذر) آن وجود دارد و مقدار آن باتوجه به خصوصیات ژنتیکی و محیطی بین 5-2 درصد متغیر است. Goudarzi و همکاران (2011) در مطالعه خود اثر ضد میکروبی اسانس زنیان را به روش انتشار دیسک دیفیوژن بر باکتری‌های *سالمونلا* تیفی موریوم¹، *سودوموناس آئروگینوزا*²، *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*³ مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که اسانس این گیاه بر تمام باکتری‌های مورد بررسی موثر بود و بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به گونه *سالمونلا* با میزان 23 میلی‌متر بود.

در طی سال‌های اخیر، فیلم‌های فعال آنتی‌اکسیدانی مختلفی حاوی انواع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی طراحی شده و تأثیر آن‌ها بر روی افزایش پایداری اکسیداتیو محصولات غذایی مختلف به اثبات رسیده است (Almasi et al., 2016; Byun et al., 2010;).

تازه که متحمل کمترین فرایند شده‌اند و حاوی کمترین افزودنی هستند، می‌باشد و در سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای برای تولید و اقتصادی کردن آن انجام شده است (Abdollahi et al., 2012). استفاده از فیلم‌های خوراکی به‌منظور حمل اسانس‌های گیاهی می‌تواند منجر به کاهش مقدار مورد نیاز اسانس در اثر انکسوله شدن در شبکه پلیمری شود، لذا منجر به کاهش تاثیر منفی احتمالی اسانس مانند آرومای شدید و تغییرات ارگانولپتیکی (نسبت به حالت افزودن مستقیم اسانس به ماده غذایی) می‌شود (López-Mata et al., 2013).

گیاه مرزنجوش با نام علمی *Origanum vulgare* از خانواده نعنائیان است که شامل سه زیر گونه *Vulgare*، *gracile* و *Viride* می‌باشد. واریته *gracile* تحت عنوان مرزنجوش بخارایی، بومی ایران به‌خصوص نواحی شمال غرب (کردستان و آذربایجان غربی) است. گونه‌های گیاه مرزنجوش حاوی 1-1/5 درصد اسانس روغنی است (Moradi et al., 2015). مرزنجوش از مهمترین منابع گیاهی دارای آنتی‌اکسیدان‌های فنلی است و به‌طور کلی بسیاری از مطالعات انجام گرفته فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی و ضدباکتریایی گونه‌های مرزنجوش را تایید می‌کند که این اثر را به ترکیبات عمده اسانس روغنی این گیاه شامل کارواکرول، تیمول و گاما ترپنین که ساختارهای فنلی مونوترپنئیدی هستند، نسبت می‌دهند (Kalemba and Kunicka, 2003). زنیان نیز با نام علمی *Carum copticum* یک گیاه یکساله از خانواده چتریان است که در کشورهای ایران، هند و مصر با گل‌های سفید و کوچک و بذره‌های قهوه‌ای روشن رشد می‌کند. از زنیان به‌صورت خوراکی به‌عنوان ضد درد، ضد آسم، ضد تهوع و خلط‌آور و به‌صورت موضعی در درمان دردهای روماتیسمی استفاده می‌شود (Khajeh et al., 2004). بیشترین میزان اسانس گیاه در میوه (بذر) آن وجود دارد و مقدار آن باتوجه به خصوصیات ژنتیکی و محیطی بین 5-2 درصد متغیر است. Goudarzi و همکاران (2011) در مطالعه خود اثر ضد میکروبی اسانس زنیان را به روش انتشار دیسک دیفیوژن بر باکتری‌های *سالمونلا* تیفی موریوم¹، *سودوموناس آئروگینوزا*²، *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*³ مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که اسانس این گیاه بر تمام باکتری‌های مورد بررسی موثر بود و بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به گونه *سالمونلا* با میزان 23 میلی‌متر بود.

در طی سال‌های اخیر، فیلم‌های فعال آنتی‌اکسیدانی مختلفی حاوی انواع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی طراحی شده و تأثیر آن‌ها بر روی افزایش پایداری اکسیداتیو محصولات غذایی مختلف به اثبات رسیده است (Almasi et al., 2016; Byun et al., 2010;).

⁴ Nanoreinforcements

⁵ Nanocomposite polymers

⁶ Cellulose Nanofiber

⁷ Lignocellulose Nanofiber

¹ *salmonella typhimurium*

² *Pseudomonas aeruginosa*

³ *Staphylococcus aureus*

به مدت 2 ساعت در دمای $45 \pm 1/5$ درجه سانتی‌گراد بر روی هات پلیت مغناطیسی با دور 1200 rpm قرار داده شد تا محلول یکنواختی به‌دست آید. سپس 40 درصد وزنی کیتوزان (0/8 گرم) گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده به مخلوط اضافه شد و به مدت 15 دقیقه فرایند همزدن بر هات پلیت ادامه یافت (فیلم شاهد). برای تولید فیلم‌های کامپوزیت فعال، 5% وزنی کیتوزان اسانس روغنی گیاه مرزنجوش بخارایی و زنیان به‌طور جداگانه و یا به‌صورت ترکیبی (بر اساس طرح مورد نظر) به مخلوط اضافه و بلافاصله 0/2% اسانس، امولسیفایر Tween 80 به مجموعه اضافه شد. در ادامه مخلوط به مدت 1/5 ساعت توسط همزن مغناطیسی تا تشکیل یک امولسیون شیری رنگ و یکنواخت همزده شد. سپس مخلوط نهایی درون پلیت‌هایی با قطر 10 سانتی‌متر (33 گرم) پخش شد. پلیت‌ها درون آون با دمای 30 ± 1 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت قرار داده شد تا فیلم‌ها به‌طور کامل خشک گردد.

برای تولید نانوکامپوزیت‌های فعال، ابتدا 4% وزنی کیتوزان ژل نانوفیبر سلولز و یا لیگنوسلولز داخل مقداری آب مقطر پخش شده سپس جهت پخش شدن یکنواخت در فیلم توسط دستگاه اولتراسوند (ROHS Digital-D5A100-SK2 South Korea) به مدت 30 دقیقه تحت امواج اولتراسونیک با شدت 40 KHz/100W قرار گرفت. قبل از افزودن اسانس روغنی این دیسپرسیون نانوفیبر به مخلوط اضافه شده و پس از 30 دقیقه همزدن اسانس روغنی و امولسیفایر به مجموعه اضافه گردید. پس از 1/5 ساعت همزدن در دمای محیط مخلوط درون پلیت‌ها پخش شده و داخل آون در دمای 30 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت خشک گردید. پس از خشک شدن، آن‌ها را از سطح پلیت‌ها جدا کرده و داخل بسته‌های زیپ‌پک تا زمان انجام آزمایش‌ها در محیط نسبتاً تاریک و بدون تابش مستقیم نور نگهداری شد (Ruiz-Navajas et al., 2013). فیلم‌های تولید شده به‌طور میانگین دارای ضخامتی برابر $120 \pm 5 \mu\text{m}$ بودند که توسط میکرومتر دستی (Alton M820-25, Nanjing, Jiangsu, China) با دقت 0/01 میکرون اندازه‌گیری شد.

آزمون پراش اشعه ایکس (XRD)

آنالیز پراش پرتوایکس بر فیلم‌ها بر پایه کیتوزان حاوی مقادیر مختلف اسانس و نانوفیبر به‌منظور تعیین حالت آمورف (بی‌نظم) و کریستالی آن‌ها صورت گرفت. در این آزمون از دستگاه پراش‌سنج X'Pert MPD (Philips Co., Holland) به‌منظور انجام آزمایش‌ها و ثبت داده‌ها استفاده گردید. الگوی پراش پرتوایکس با ولتاژ شتاب‌دهنده 40 KV و شدت جریان 30 Ma با استفاده از تابش MgK انجام پذیرفت. منحنی پراش در محدوده زوایای پراش (2θ) تا 20 درجه با سرعت 1 درجه بر دقیقه و گام 0/02 حاصل گردید.

همچنین در زمینه کاربرد نانوفیبرلیگنوسلولز به عنوان تقویت کننده خواص فیلم های خوراکی و همچنین کنترل کننده رهایش عامل فعال از پلیمرها تاکنون پژوهشی صورت نگرفته است. بنابراین هدف از انجام پژوهش حاضر، تولید فیلم فعال کیتوزان حاوی اسانس مرزنجوش و زنیان به صورت جداگانه و ترکیبی و ارزیابی بهبود خواص فیزیکوشیمیایی و حرارتی فیلم های فعال تولید شده، با استفاده از نانوفیبرهای آلی به عنوان نانوتقویت کننده و در نهایت بهینه سازی ویژگی های نانوکامپوزیت فعال بود.

مواد و روش ها

کیتوزان با وزن مولکولی متوسط (KD 310-190) و درجه استیل‌زدایی 75-85% از شرکت سیگما آلدْرِیج (آمریکا) خریداری گردید. نانوفیبر سلولز (CNF) و نانوفیبر لیگنوسلولز (LCNF) به ترتیب به صورت ژل سفید و قهوه‌ای با میزان ماده خشک 2/5% از شرکت نانونین پلیمر (ایران، ساری) خریداری شد. متوسط قطر CNF، 28 nm، طول 2-3 μm و خلوص بالاتر از 99% بود و متوسط قطر LCNF برابر 55 nm و طول 2-5 μm بود و از خمیر چوب رنگبری نشده با روش مکانیکی تولید می‌شود. برگ گیاه مرزنجوش بخارایی¹ و دانه زبان² جهت استخراج اسانس از گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. سایر ترکیبات شامل گلیسرول، کلسیم سولفات و پتاسیم سولفات از شرکت شارلو خریداری گردید. اسید استیک، DPPH، Tween 80، از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. روغن کلزی تصفیه بدون آنتی‌اکسیدان و دارای آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ نیز از کارخانه روغن مایع ماهک (آذربایجان شرقی) تهیه گردید.

استخراج اسانس

برای تولید اسانس روغنی خالص گیاهان مرزنجوش بخارایی و
زینان از دستگاه اسانس گیر (کلونجر) استفاده شد. سپس اسانس
حاصل در شیشه‌های تاریک در دمای یخچال تا زمان مصرف
نگهداری گردید (Khajeh et al, 2004).

روش تولید فیلم نانوکامپوزیت فعال

در این پژوهش از روش کاستینگ³ (قالب‌ریزی) برای تولید فیلم‌های فعال بر پایه بیوپلیمر کیتوزان استفاده گردید. برای این منظور کیتوزان با وزن مولکولی متوسط به صورت 2 درصد وزنی/حجمی در 100 میلی‌لیتر محلول اسید استیک 1% حل شده و

¹ *Origanum vulgare* ssp. *gracile*

² Carum copticum (Ajowan)

³ solvent casting method

(Ballner et al, 2016).

$$WVP = \frac{WVTR}{P(R_1 - R_2)} \times X \quad (1)$$

X؛ ضخامت فیلم (mm)، P؛ فشار بخار آب خالص در 25°C (3169 Pa)، R₁؛ رطوبت نسبی در دسیکاتور (97%) و R₂؛ رطوبت نسبی در داخل ویال (0%) می باشد.

میزان حلالیت در آب (WS)

نمونه های فیلم در ابعاد 3×3 cm² برش داده شد و برای رسیدن به وزن خشک اولیه به مدت 3 ساعت در آون 105 درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس نمونه های فیلم پس از توزین (M_i) داخل 50 میلی لیتر آب مقطر غوطه ور شدند و ظروف در حالی که به صورت مقطعی همزده می شدند، در دمای 25 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت قرار گرفتند. سپس نمونه های فیلم از داخل آب خارج و به مدت 6 ساعت در آون 105 درجه سانتی گراد قرار گرفتند تا به وزن ثابت برسند. با توزین دوباره نمونه ها وزن خشک نهایی (M_f) به دست آمد. درصد حلالیت در آب از رابطه زیر محاسبه گردید (Abdollahi et al, 2012).

$$WS(\%) = \frac{(M_i - M_f)}{M_i} \times 100 \quad (2)$$

نفوذپذیری فیلم ها نسبت به نور

برای اندازه گیری نفوذپذیری فیلم ها نسبت به نور از اسپکتروفتومتر استفاده گردید. برای این منظور قطعه ای از فیلم به ابعاد 3×4 cm² بریده شده و در مقابل منبع نوری دستگاه قرار گرفت و میزان عبور نور UV و مرئی در طول موج 200-800nm و با سرعت 80 nm/min تعیین گردید. میزان کدورت فیلم ها نیز از طریق اندازه گیری جذب فیلم ها در طول موج 600nm و رابطه 3 محاسبه گردید (Gomez-Guillen et al, 2007). در این رابطه Abs₆₀₀ میزان جذب نمونه های فیلم در طول موج 600nm و x ضخامت فیلم بر حسب میلی متر می باشد.

$$Opacity = \frac{Abs_{600}}{x} \quad (3)$$

ویژگی ضد میکروبی فیلم ها

برای تعیین اثر ضد میکروبی فیلم خوراکی از روش نفوذ ترکیبات ضد میکروبی فیلم در محیط آگار³ استفاده شد. در این روش فیلم ها به صورت صفحه های دایره ای به قطر 6 میلی متر بریده و به محیط کشت آگار مغذی که از قبل با 10⁶ cfu/ml میکروارگانیزم از یکی از انواع/شریشیاکلی O157:H و یا

آزمون خواص حرارتی

برای بررسی خواص حرارتی، از گرماسنج روبشی افتراقی (DSC) استفاده شد. برای این منظور نمونه هایی از فیلم با وزن تقریبی 5 میلی گرم با سرعت 10°C/min در گستره دمایی صفر تا 300 درجه سانتی گراد حرارت داده شد و مجدداً با همان سرعت تا صفر درجه سانتی گراد سرد شد. از روی الگوی گرمایی به دست آمده دمای انتقال شیشه ای (Tg) و دمای ذوب، تعیین گردید (Celebi and Kurt, 2015).

تعیین ویژگی های مکانیکی

اندازه گیری ویژگی های مکانیکی فیلم ها شامل کرنش تا نقطه پارگی (STB)، استحکام کششی نهایی (UTS) و حداکثر نیرو در نقطه شکست (FB) فیلم ها بر اساس روش استاندارد ASTM به شماره D 882-10 (2010) و با استفاده از دستگاه آنالیز بافت (Shimadzu, Kyoto, Japan) انجام گرفت. برای این منظور فیلم ها به شکل مستطیلی با ابعاد 2×8 cm² برش داده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه 50 میلی متر و سرعت حرکت فک ها روی 40 میلی متر بر دقیقه تنظیم گردید (ASTM, 2010).

نفوذپذیری نسبت به بخار آب¹ (WVP)

برای این کار از ویال های مخصوصی با قطر 2cm و ارتفاع 4/5 cm استفاده شد. در درپوش این ویال ها منفذی به قطر 5 mm قرار داشت که قطعه ای از فیلم مورد آزمون در این قسمت قرار می گرفت. برای این منظور ابتدا 3 گرم سولفات کلسیم (رطوبت برابر صفر) در داخل ویال ها قرار داده شد، سپس قطعه ای از فیلم بریده شده و در درپوش ویال قرار گرفت. ویال ها با تمام محتویاتش توزین شده و درون دسیکاتور حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم قرار داده شد. سولفات پتاسیم اشباع در دمای 25 درجه رطوبت نسبی 97% ایجاد می کند. دسیکاتور در دمای 25 درجه قرار داده شد سپس به مدت 3 روز وزن ویال ها اندازه گیری گردید. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم ها از روی افزایش وزن ویال ها تعیین شد (Salaberria et al, 2015). منحنی افزایش وزن ویال ها با گذشت زمان رسم شد و پس از محاسبه رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه گردید. از تقسیم کردن شیب خط مربوط به هر ویال به کل سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، آهنگ انتقال بخار آب² (WVTR) به دست آمد.

¹ Water vapor permeability² Water vapor transmission rate³ Film disk agar diffusion assay

استفاده گردید. در مطالعه اثر نانوکامپوزیت بهینه تولیدی بر پایداری اکسایشی روغن کلزا، از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. برای آنالیز داده‌ها و تعیین اثرات فاکتورهای مطالعاتی از آنالیز واریانس و توزیع فشر در نرم‌افزار SAS 9.1 استفاده گردید. سطح خطای نوع اول در این مطالعه برابر 0/05 در نظر گرفته شد و آزمایشات در سه تکرار اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)

در تمام مواد ویژگی‌های ساختاری کریستالی، یا همان نظم کریستالی، به‌طور کامل در ماده وجود ندارد و مواد به‌صورت ترکیبی از حالت آمورف (بی‌نظم) و کریستالی می‌باشند. حوزه‌های آمورف قله‌های پهن و نواحی کریستالی قله‌های تیز را در نمودار تشکیل می‌دهند. از نسبت شدت این قله‌ها می‌توان برای تعیین بلورینگی استفاده کرد (Ballner et al, 2016). ساختار فیلم‌های کامپوزیت و نانوکامپوزیت توسط آزمون XRD مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در شکل 1، آورده شده است. طیف XRD فیلم کیتوزان خالص (CH) نشان داد که کیتوزان در $2\theta=8/73$ و $2\theta=21/15$ دارای پیک‌های نوک تیزی می‌باشد که حاکی از وجود نواحی کریستالی در ساختار آن می‌باشد، بنابراین فیلم کیتوزان خالص ساختاری نیمه کریستالی داشته و درجه بلورینگی آن پایین می‌باشد. در مورد فیلم کامپوزیتی CH-EO (فیلم کیتوزان حاوی ترکیبی از دو اسانس با نسبت 50:50)، شدت پیک‌ها به آرامی کاهش یافت و حالت کریستالی فیلم خوراکی تولیدی نسبت به نمونه کیتوزان خالص تقلیل پیدا کرد که این موضع تایید می‌کند افزودن اسانس اثر کاهشی بر حالت کریستالی (افزایش حالت آمورف) فیلم خوراکی بر پایه کیتوزان دارد. در واقع می‌توان گفت که با تشکیل پیوندهای جدید بین کیتوزان و اسانس، ساختارهای اصلی کریستالی در کیتوزان تا حدودی تخریب می‌شود به‌طوری‌که پیک‌های نسبتاً تیز که نشان از ساختار کریستالی در این نواحی می‌باشد، با افزودن اسانس ارتفاع این پیک‌ها کاهش و تا حدودی عرض آن‌ها بیشتر شده است که البته در پژوهش حاضر این تغییرات چندان چشمگیر نمی‌باشد. با افزودن 4% نانوتقویت‌کننده‌های CNF و یا LCNF به فرمولاسیون فیلم CH-EO شدت این پیک‌ها به تدریج افزایش یافت و در برخی نواحی پیک‌های جدیدی نیز تشکیل شد که حاکی از افزایش خاصیت کریستالی فیلم‌های نانوکامپوزیت CH-EO-CNF و CH-EO-LCNF نسبت به فیلم شاهد و فیلم CH-EO می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود طیف XRD فیلم CH-EO-CNF نشان‌دهنده وجود نواحی کریستالی در $2\theta=8$ ، $2\theta=11/8$ ، $2\theta=18/15$ و $2\theta=22/5$ می‌باشد و با افزودن LCNF به ساختار کیتوزان شدت پیک‌ها در نواحی $2\theta=8$ ، $2\theta=11/8$ ، $2\theta=14$ و $2\theta=18$ افزایش یافت و یک

باسیلوس سرئوس تلقیح شده بود منتقل شدند. پس از آن پتری دیش‌های حاوی محیط کشت آلوده همراه با فیلم‌های ضد میکروبی برای مدت 24 ساعت در انکوباتور 37°C نگهداری شدند. برای دانستن میزان ممانعت‌کنندگی فیلم خوراکی از رشد میکروارگانیسم‌ها قطر هاله‌های تشکیل شده با استفاده از کولیس (INSTAR, China) با دقت 0/01 میلی‌متر اندازه‌گیری شد (Genskowsky et al, 2016).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها

به‌طور خلاصه 25 میلی‌گرم از هر فیلم با 4 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت 2 دقیقه همزده شد. سپس 2 میلی‌لیتر از محلول عصاره استخراج شده از فیلم با 0/2 میلی‌لیتر محلول متانولی 1 میلی‌مولار DPPH مخلوط و به مدت 1 دقیقه توسط ورتکس در دور 3000 دور در دقیقه مخلوط گردید. پس از یک ساعت قرار دادن نمونه‌ها در دمای محیط و مکان تاریک، جذب آن‌ها در طول موج 517 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (T60 UV, USA) اندازه‌گیری شد (Dashipour et al 2014). درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط فیلم‌های خوراکی تولید شده از رابطه 4 محاسبه گردید.

$$I(\%) = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100 \quad (4)$$

پایداری اکسیداتیو روغن کلزا

درون ویال‌هایی با حجم 10 میلی‌لیتر، مقدار 10 میلی‌لیتر روغن کلزای تصفیه شده و بدون آنتی‌اکسیدان افزوده شد و سپس قطعه‌ای از فیلم مورد نظر به ابعاد $4 \times 3 \text{ cm}^2$ بریده شده و درون روغن غوطه‌ور گردید. سپس درب ویال به‌صورت درز بندی سفت گردید و به مدت 2 ماه در جای تاریک و دمای 25°C قرار داده شد. در طول مدت نگهداری هر 15 روز دو عدد از ویال‌ها برداشته شده و پایداری اکسیداتیو روغن درون آن‌ها با اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV) مورد بررسی قرار گرفت. عدد پراکسید نمونه‌های روغن بر اساس اندازه‌گیری میزان ید تولید شده در اثر واکنش با پراکسیدها محاسبه گردید (Almasi et al, 2016).

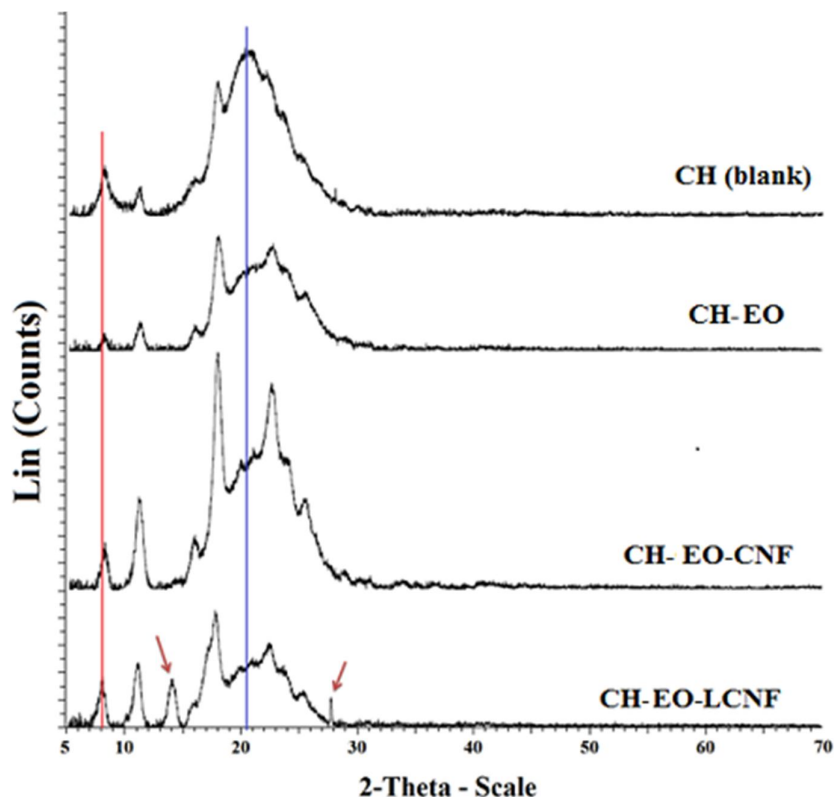
$$PV (\text{meqO}_2 / \text{kg oil}) = \frac{(S - B) \times N \times 1000}{m} \quad (5)$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در پژوهش حاضر، از طرح ترکیبی (Combined) در نرم‌افزار Design expert 7 برای مطالعه اثر نوع نانوفیبر (نانوفیبر سلولز و لیگنوسلوز) در مقدار ثابت 4% وزنی کیتوزان، غلظت اسانس مرزنجوش بخارایی (5- صفر%) و زنیان (5- صفر%) بر ویژگی‌های فیلم‌های بیونانوکامپوزیت تولیدی بر پایه کیتوزان و بهینه‌سازی آن‌ها

به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر این تقویت‌کننده‌ها باشد. در تحقیقاتی مشابه Jafari و همکاران (2016) نیز گزارش دادند که به‌طور کلی پهنا و ارتفاع پیک‌های نواحی بلورین فیلم کیتوزان با افزایش نانوفیبر سلولز با منشا میکروبی و گیاهی افزایش یافت که نشان‌دهنده تأثیر مثبت نانوفیبرهای سلولز در ایجاد اتصالات بین رشته‌ای و افزایش انسجام بین مولکول‌ها و در نتیجه افزایش درجه بلورینگی فیلم می‌باشد که این افزایش درجه بلورینگی به نوبه خود بر روی سایر خواص فیزیکی فیلم‌های بیونانوکامپوزیت نیز اثرگذار می‌باشد.

پیک جدید هم در زاویه $2\theta=28$ ایجاد گردید (شکل 1) که می‌توان آن را به بلورهای سلولز و لیگنوسلولز نسبت داد. در مجموع نتایج آنالیز طیف نگاره‌های آزمون XRD نشان داد که به‌کاربردن این نانوفیبرها در ساختار فیلم خوراکی بر پایه کیتوزان سبب افزایش نواحی کریستالی و درجه بلورینگی فیلم‌ها نسبت به کیتوزان خالص گردید و در این بین اثر CNF بیشتر از LCNF بود. دلیل این امر اولاً نقش تقویت‌کنندگی این نانوفیبرها در افزایش انسجام و تراکم بین رشته‌های پلیمر و ثانیاً تشکیل توده کریستال



شکل 1- طیف XRD فیلم‌های فعال و نانوکامپوزیت فعال بر پایه کیتوزان.

اسانس در بین زنجیره‌های کیتوزان و برقراری پیوند با آن‌ها بوده است که باعث افزایش نظم و انسجام ساختاری در نواحی آمورف شده است. خواص مکانیکی فیلم‌ها نیز این موضوع را تأیید می‌کند، به‌طوری‌که افزودن ترکیب دو اسانس با نسبت 50:50 منجر به افزایش معنی‌داری در میزان UTS فیلم کیتوزان شد. در تحقیقات مختلفی که تاکنون به‌منظور بررسی دمای انتقال شیشه‌ای کیتوزان خالص و کامپوزیت‌های بر پایه آن صورت گرفته است، نتایج بسیار متفاوتی حاصل شده است، زیرا کیتوزان یک بیوپلیمر نیمه بلورین است که از زنجیره‌های بسیار سفت تشکیل شده است و گاهی رفتار تغییر فاز متفاوتی را نشان می‌دهد (Beikzadeh et al, 2016; Dhawade).

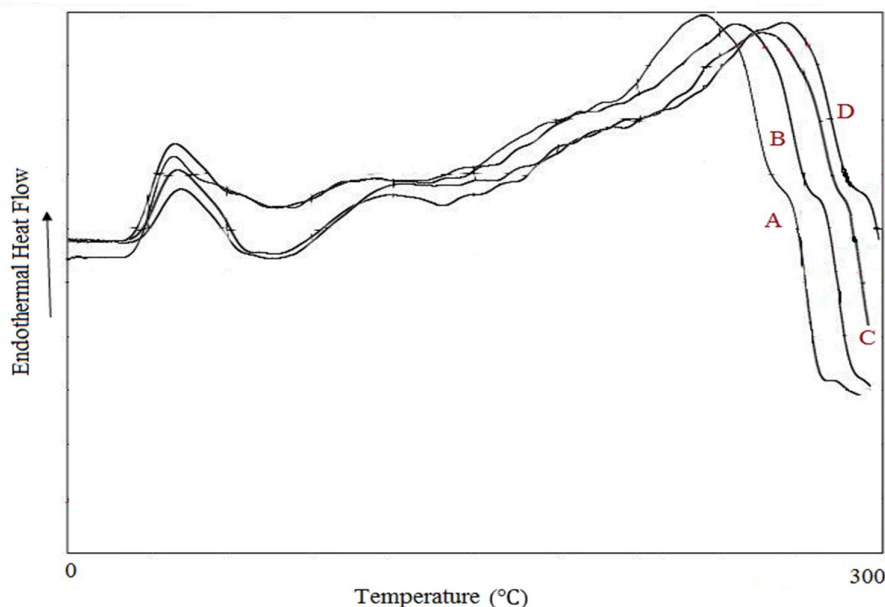
خواص حرارتی فیلم‌ها

در شکل 2، ترموگرام‌های به‌دست آمده از آنالیز حرارتی فیلم کیتوزان و نانو کامپوزیت‌های آن نشان داده شده است. در این منحنی‌ها 2 پیک گرماگیر (Endothermic) مشاهده می‌شود، اولین پیک ظاهر شده مربوط به T_g و دومین پیک مربوط به T_m می‌باشد. طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد که برای فیلم خالص کیتوزان دمای T_g و T_m به‌ترتیب برابر $45/92$ و $286/78$ درجه سانتی‌گراد بود که با افزودن 5% اسانس دمای T_g تغییری پیدا نکرد ولی دمای T_m حدود 5 درجه افزایش یافت. علت افزایش دمای ذوب فیلم‌ها با افزایش اسانس زنیان احتمالاً قرار گیری ترکیبات دارای گروه عاملی

نانوکامپوزیت CH-CEO-LCNF بود. افزایش Tg وجود پیوندهای قوی بین نانوفیبرها به‌ویژه LCNF و زنجیره‌های کیتوزان در نواحی آمورف را تایید می‌کند. افزایش Tg به دلیل کاهش تحرک زنجیره‌های کیتوزان قرار گرفته در مجاورت نانوفیبرها است. کاهش تحرک زنجیره‌ها، به احتمال زیاد به علت انسجام و نظم یافتگی موضعی زنجیره‌ها در سطح مشترک آن‌ها با نانوذرات و همچنین کاهش انرژی پیکربندی بخش‌های قرار گرفته در مجاورت نانوفیبرها می‌باشد. نتایج مشابهی در مورد افزایش Tg بیوپلیمرها در اثر افزودن نانوفیبرهای سلولز توسط Azeredo و همکاران (2010) و Celebia و Kurt (2015) و همچنین افزودن نانوفیبر کیتین به فیلم‌های پلی‌اتیلن اکسید توسط Wu و همکاران (2017) گزارش شده است. در حالیکه دهنداد و همکاران (1392) با بررسی ویژگی‌های حرارتی نانوکامپوزیت‌های کیتوزان - نانوسلولز گزارش دادند که با افزایش درصد نانوسلولز، آنتالپی ذوب و نیز دمای انتقال شیشه‌ای روند نزولی نشان داد؛ که علت این عملکرد را به افزایش تحرک زنجیره‌های پلیمری کیتوزان در اثر فعل و انفعال با لایه‌های نانوسلولز نسبت دادند. بنابراین طبق مطالعات انجام شده می‌توان گفت که تاثیر نانوپرکننده‌ها بر خواص حرارتی فیلم‌های خوراکی تا حد زیادی به نوع نانوپرکننده و بیوپلیمر و برهمکنش بین آن‌ها و همچنین حضور ترکیباتی مانند گلیسرول و اسانس‌ها در ساختار فیلم بستگی دارد.

(and Jagtap, 2012). همچنین لازم به ذکر است که وزن مولکولی کیتوزان، منبع آن، شرایط تولید و همچنین میزان داستیلاسیون زنجیره‌ها می‌تواند در تعیین دمای انتقال شیشه‌ای و ذوب کیتوزان موثر باشد (Dhawade and Jagtap, 2012).

به‌طور کلی افزودن ترکیبات نانوفیبری به ساختار فیلم کیتوزان منجر به افزایش دمای انتقال شیشه‌ای فیلم‌ها گردید و در این بین تاثیر نانوپرکننده LCNF بیشتر از CNF بود (شکل 2). بطوریکه با افزودن 4% نانوتقویت‌کننده CNF به ساختار فیلم فعال، دمای Tg افزایش اندکی نشان داد ولی دمای ذوب حدود 4/3 درجه سانتی‌گراد کاهش یافت که البته نسبت به فیلم کیتوزان خالص حدود 2 درجه سانتی‌گراد بالاتر بود. این در حالی بود که طبق نتایج به‌دست آمده بالاترین دمای Tg و دمای Tm به نانوکامپوزیت حاوی 4% نانوپرکننده LCNF (CH-CEO-LCNF) تعلق داشت که به‌ترتیب برابر 50/96 و 296/86 درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد. افزایش دمای Tm فیلم‌های نانوکامپوزیت در حضور LCNF نشان می‌دهد که نافیبرهای لیگنوسلولز همچنین می‌توانند پایداری حرارتی کیتوزان را افزایش دهند. شباهت ساختاری و حالیت کیتوزان و لیگنوسلولز باعث ایجاد بیشترین میزان پیوند هیدروژنی بین نانوفیبر و ماتریس پلیمر شده و در نتیجه دمای انتقال شیشه‌ای و دمای ذوب افزایش یافته است. نتایج فوق تاییدی بر نتایج خواص مکانیکی می‌باشد، به‌طوری‌که بیشترین میزان استحکام کششی نیز مربوط به

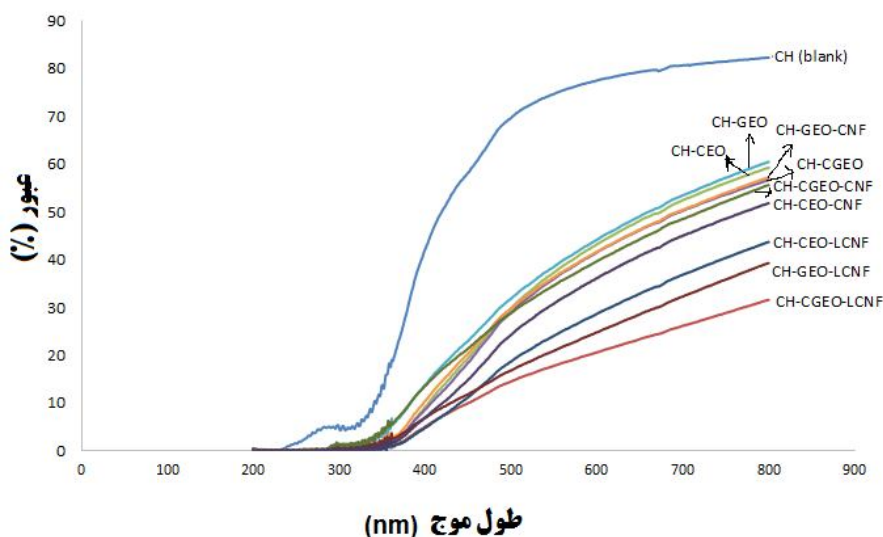


شکل 2- منحنی‌های DSC فیلم خالص کیتوزان (A)، نانوکامپوزیت CH-EO-CNF (B)، فیلم فعال CH-EO (C)، نانوکامپوزیت CH-EO-LCNF (D).

نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به نور

ممانعت در برابر عبور امواج ماوراءبنفش (UV) یا نور مرئی یکی از ویژگی‌های مهم ماده بسته‌بندی می‌باشد که به‌ویژه در مورد مواد غذایی حساس به نور مانند غذاهای پرچرب، می‌تواند به اندازه بازدارندگی نسبت به اکسیژن حائز اهمیت باشد (Gomez-Guillen *et al*, 2007). نتایج عبور نور فیلم‌ها و در نتیجه میزان کدورت آن‌ها، با استفاده از روش اسپکتروسکوپی در محدوده طول موج 200- 800 nm اندازه‌گیری شد که طیف نگاره‌های UV- نور مرئی برای فیلم‌های مختلف کیتوزان در شکل 3 نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در محدوده 200- 380 nm (نور UV) میزان عبور نور از همه فیلم‌ها قابل چشم‌پوشی است و تقریباً عبور نوری از فیلم‌های فعال بر پایه کیتوزان مشاهده نمی‌شود. در حالیکه با افزایش طول موج و وارد شدن به ناحیه نور مرئی، میزان عبور نور از همه فیلم‌ها افزایش پیدا کرد. بر اساس نتایج به‌دست آمده مشخص

شد که بیشترین میزان عبور نور در ناحیه طول موج 400- 800nm به فیلم کیتوزان خالص تعلق داشت و با افزودن 5% اسانس زنیان و مرزنجوش به‌طور جداگانه یا ترکیبی (50:50) میزان عبور نور به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (شکل 5). در همین راستا Dashipour و همکاران (2014)، Gomez-Guillen و همکاران (2007) و Abdollahi و همکاران (2012) به‌ترتیب با افزودن اسانس میخک، اسانس برگ گیاه مارتا و اسانس روزماری به فیلم‌های خوراکی حاصل از کیتوزان و ژلاتین ماهی، نتایج مشابهی را گزارش دادند. افزودن نانوتقویت‌کننده‌های آلی تاثیر مضاعفی بر کاهش عبور نور مرئی از فیلم‌ها داشت، به‌طوری که کمترین میزان عبور نور در بین همه فیلم‌های تولیدی، به بیونانوکامپوزیت‌های فعال حاوی CNF و LCNF تعلق داشت. البته همانطور که طیف نگاره های UV- نور مرئی نشان می‌دهد LCNF تاثیر بیشتری در ممانعت از عبور نور مرئی نسبت به CNF داشت (شکل 3).



شکل 3- طیف نگاره UV-نور مرئی برای فیلم‌های فعال و نانوکامپوزیت فعال بر پایه کیتوزان.

در مقابل عبور نور عمل کنند. Fabra و همکاران (2009) نیز بیان کردند که خواص نوری فیلم‌های خوراکی به تغییرات ساختاری فیلم‌ها طی فرایند خشک کردن، رنگ ترکیبات تشکیل‌دهنده فیلم، نوع دیسپرسیون و اندازه ذرات تشکیل‌دهنده آن بستگی دارد. از ضخامت فیلم‌ها که در محدوده $120 \pm 5 \mu\text{m}$ بود برای محاسبه میزان کدورت فیلم‌ها در طول موج 600 nm طبق رابطه 3 مورد استفاده قرار گرفت. طبق این رابطه میزان کدورت فیلم‌ها رابطه معکوسی با میزان عبور نور از فیلم‌ها دارد، بنابراین فیلم کیتوزان خالص که دارای بیشترین میزان عبور نور بود، کمترین میزان کدورت را در بین فیلم‌های تولیدی داشت (0/93). با افزودن اسانس زنیان و

Liu و Tung (2008) و Almasi و همکاران (2014) با بررسی اثر نانوفیبر طبیعی سلولز (CNF) و نانوفیبر سلولز اصلاح شده (MCNF) بر روی خواص بازدارندگی نسبت به نور به‌ترتیب فیلم‌های پلی‌ونیل‌الکل و PLA نتایج مشابهی را گزارش دادند. دلایل پیشنهادی آن‌ها عبارت بود از: پراکندگی نور توسط CNF بلوری، پراکندگی نور در ناحیه بین سطحی نانوفیبر/ پلیمر و تماس نامطلوب پلیمر و نانوفیبر در ناحیه بین سطحی که باعث ایجاد حفرات و فضاهای خالی ریزی در شبکه پلیمری شده و از این طریق نیز به پراکنده کردن نور کمک می‌کند. همچنین نانوفیبر ذرات و نانوفیبرهایی با اندازه بزرگتر از طول موج نور، قادرند به‌عنوان یک سد

بهینه‌سازی فیلم‌های نانوکامپوزیت فعال

در این مرحله به منظور انتخاب فیلم بهینه حاوی نسبت مشخصی از اسانس مرزنجوش بخارایی و زنیان در غلظت ثابت 5 % و همچنین یکی از نانوتقویت‌کننده‌های CNF و LCNF در غلظت ثابت 4 %، از طرح ترکیبی Combined با دو متغیر مخلوط (اسانس‌ها) و یک متغیر مستقل (نانوفیبرها) استفاده گردید. بر این اساس پارامترهای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نفوذپذیری، خواص مکانیکی و ضدمیکروبی با مدل کوادراتیک و حلالیت با مدل کیوبیک برازش شدند که خلاصه نتایج آنالیز واریانس و ضرایب رگرسیون مدل‌ها در جدول 1، نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در همه مدل‌ها Lack of fit بی‌معنی ($p > 0/05$) و رگرسیون‌ها معنی‌دار ($p < 0/05$) بودند، همچنین بالا بودن ضرایب تبیین ($R^2 > 0/85$) و ضریب تبیین اصلاح شده (R^2_{adj}) نشان‌دهنده کفایت مدل‌های ارائه شده برای هر پاسخ می‌باشد.

مرزنجوش به‌طور جداگانه و همچنین ترکیبی به ساختار فیلم، میزان کدورت فیلم‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که متناسب با کاهش عبور نور از این فیلم‌ها می‌باشد. در حالیکه با اضافه کردن 4% نانوتقویت‌کننده CNF و LCNF به فیلم‌های حاوی اسانس، میزان کدورت افزایش قابل توجهی نشان داد و در این بین تاثیر LCNF نسبت به CNF به مراتب بیشتر بود. نانوفیبرها از طریق برهمکنش‌های قوی با زنجیره‌های کیتوزان و همچنین افزایش خاصیت کریستالی و دانسیته فیلم‌ها، منجر به کاهش عبور نور و در نتیجه افزایش کدورت فیلم‌های نانوکامپوزیت می‌شود (Ballner et al, 2016). بنابراین به‌طور کلی با توجه به نتایج حاصل از میزان عبور نور و کدورت فیلم‌ها، می‌توان گفت که فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس و نانوتقویت‌کننده‌های آلی پتانسیل لازم برای تاخیر در سرعت واکنش‌های اکسیداسیون ناشی از امواج نور UV در مواد غذایی را دارد.

جدول 1- ضرایب رگرسیونی مدل‌های برآورد شده برای پاسخ‌ها

خاصیت آنتی اکسیدانی	حلالیت	WVP	UST	STB	FB	هاله عدم رشد (<i>E.coli</i>)	هاله عدم رشد (<i>B.cereus</i>)
A (مرزنجوش)	24/45	1/54	29/40	49/23	59/38	9/71	13/40
B (زنیان)	16/27	1/66	30/87	56/14	61/07	13/63	17/97
AB	39/12	0/065	21/40	16/31	6/08	2/66	0/96
AC (C؛ نوع نانوفیبر)	-4/07	-0/17	7/09	3/55	7/12	-1/19	-0/46
[AC] ²	-12/05	-0/25	1/74	-0/99	3/77	-0/35	0/089
BC	6/83	-3/79	10/69	-13/67	9/56	-1/93	-2/53
[BC] ²	-28/09	7/15	0/92	22/43	6/59	0/24	0/018
ABC	-28/37	11/84	-8/34	-21/35	14/32	-0/93	-0/40
[ABC] ²	74/02	-23/31	7/28	-72/15	-12/03	-0/76	-3/08
AB (A-B)	-	15/43	-	-	-	-	-
ABC (A-B)	-	-1/77	-	-	-	-	-
[ABC] ² (A-B)	-	-7/48	-	-	-	-	-
R ²	0/954	0/994	0/968	0/986	0/857	0/993	0/987
R ² _{adj}	0/907	0/980	0/935	0/973	0/749	0/988	0/978
Regression							
F ratio	19/68	72/45	11/92	31/63	72/79	198/36	100/28
Pr>F	<0/0001	<0/0001	0/0003	<0/0001	<0/0001	<0/0001	<0/0001
Lack of fit							
F ratio	3/25	1/15	1/76	3/11	1/11	3/43	2/44
Pr>F	0/114	0/352	0/498	0/108	0/457	0/106	0/175

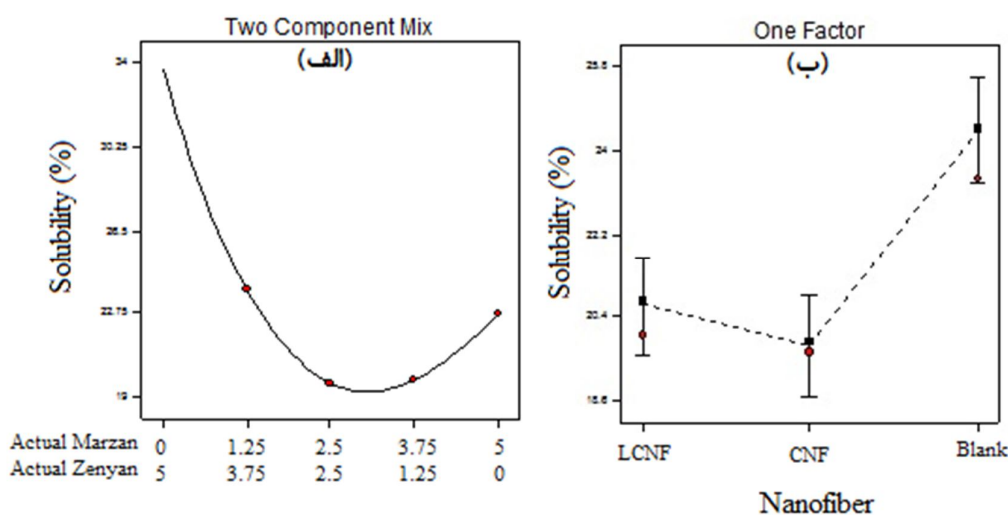
حلالیت در آب

حلالیت در آب می‌تواند یکی از مهمترین ویژگی‌های برای فیلم‌های خوراکی به دلیل مقاومت در برابر آب به‌ویژه در محیط‌های

مرطوب باشد. در واقع می‌توان گفت که حلالیت فیلم در آب می‌تواند میزان رهایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی از فیلم‌های فعال را هنگام پوشش دادن مواد غذایی تعیین کند (Abdollahi et al,

همکاران (2013) و Ojagh و همکاران (2010) نیز با ترکیب اسانس آویشن، کارواکرول و اسانس میخک در بستر فیلم کیتوزان به نتایج مشابهی دست یافتند. نتایج همچنین نشان داد با افزودن 4% نانوفیبرهای آلی به ماتریس کیتوزان، میزان حلالیت نانوکامپوزیت‌های فعال نسبت به فیلم خالص کیتوزان و فیلم‌های فعال بیشتر کاهش یافت و همانطور که در شکل 4؛ ب مشاهده می‌شود در مجموع اثر CNF بر کاهش حلالیت بیشتر از LCNF بوده است اگرچه این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). افزایش خاصیت کریستالی زنجیره‌های کیتوزان به دلیل برهمکنش‌های بین مولکولی در اثر حضور نانوفیبرهای آلی و کاهش نفوذ آب به درون زنجیره‌های پلیمری، منجر به کاهش حلالیت فیلم‌های نانوکامپوزیت شده است (Pereda et al, 2012).

(2012)، حلالیت فیلم‌ها در آب پس از 24 ساعت غوطه‌وری در آب مقطر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بالاترین میزان حلالیت مربوط به فیلم کیتوزان خالص با مقدار 25/2 درصد بود. به‌طور کلی افزودن 5% اسانس زنیان و مرزنجوش به‌صورت ترکیبی و جداگانه باعث کاهش معنی‌داری در میزان حلالیت فیلم‌های فعال گردید و همانطور که در شکل 4؛ الف مشاهده می‌شود در فیلم‌های فعال حاوی 5% اسانس زنیان حلالیت بالاتر بوده است و با افزایش نسبت اسانس مرزنجوش میزان حلالیت کاهش یافته است به‌طوری‌که کمترین مقدار آن در حالت تقریباً 50:50 دو اسانس حاصل شد. علت کاهش حلالیت فیلم‌ها با افزودن اسانس، به برهمکنش بین ترکیبات اسانس و گروه‌های آمین، آمیدی و هیدروکسیل زنجیره‌های کیتوزان مربوط است که منجر به افزایش خاصیت آب‌گریزی فیلم‌های کیتوزانی می‌گردد. Dashipour و همکاران (2014) و López- Mata و



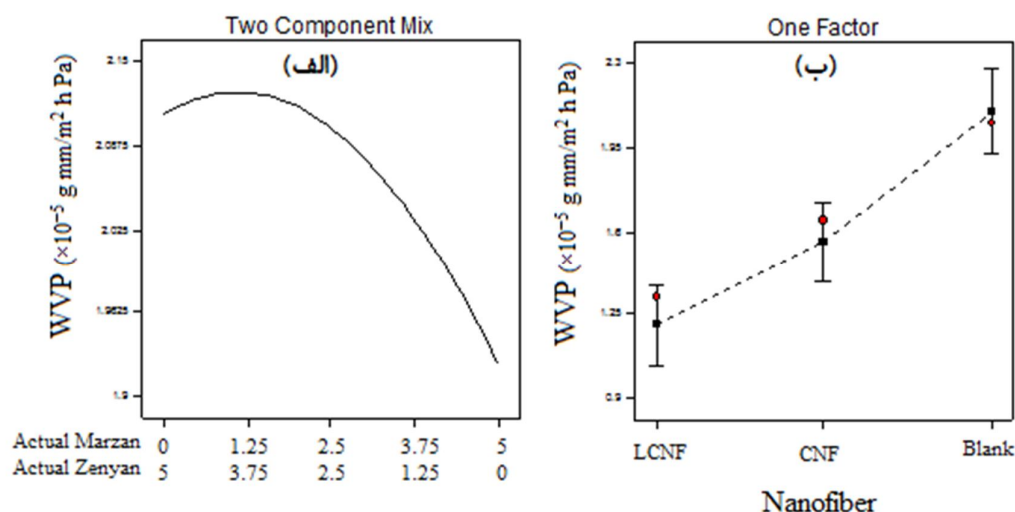
شکل 4- تاثیر الف) نوع و غلظت اسانس و ب) نوع نانوفیبر آلی بر میزان حلالیت فیلم‌های کیتوزان در آب.

CH-GEO (فیلم فعال حاوی 5% اسانس مرزنجوش) دارای WVP کمتری نسبت به فیلم‌های فعال CH-CEO بودند اگرچه این اختلاف چندان قابل توجه نمی‌باشد. خاصیت هیدروفیلی فیلم‌های فعال تولیدی به‌دلیل برقراری پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های عاملی ماتریس کیتوزان و گروه‌های هیدروکسیلی گلیسرول و اسانس کاهش پیدا می‌کند. همچنین غیرقطبی بودن خود اسانس نیز می‌تواند به کاهش WVP فیلم‌های حاوی اسانس روغنی کمک کند. Dashipour و همکاران (2014) و López- Mata و همکاران (2013) نیز گزارش دادند که غنی‌سازی فیلم کیتوزان با اسانس کارواکرول و آویشن توانایی کاهش WVP در فیلم‌ها را دارد. همچنین بررسی سایر تحقیقات نشان می‌دهد که نفوذپذیری به بخار آب می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی مختلف مانند دما و رطوبت

نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌های خوراکی با نوع کاربرد آن‌ها مرتبط است؛ به‌طوری‌که نمی‌توان هر نوع غذایی را با یک پلیمر یکسان بسته‌بندی نمود. بنابراین کاربرد بسیاری از فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر ساخته شده از زیست‌بسپارها، به دلیل بازدارندگی نسبتاً کم به بخارات آب، محدود است (عرب و همکاران، 1394). طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد که میزان WVP برای فیلم کیتوزان خالص برابر $2/63 \times 10^{-5} \text{ g mm/m}^2 \text{ h Pa}$ بود که با افزودن 5% اسانس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و برای فیلم‌های فعال در محدوده $1/92-2/15 \times 10^{-5} \text{ g mm/m}^2 \text{ h Pa}$ قرار گرفت. شکل 5؛ الف اثر مخلوط اسانس زنیان و مرزنجوش را بر تغییرات WVP فیلم‌ها نشان می‌دهد، همانطور که مشخص است فیلم‌های فعال

(2014). همانطور که در شکل 5؛ ب مشاهده می‌شود نانوکامپوزیت‌های CH-EO-LCNF دارای WVP کمتری نسبت به نانوکامپوزیت‌های CH-EO-CNF بودند که دلیل آن همانطور که قبلاً اشاره شد سازگاری مناسب LCNF با پلیمر کیتوزان نسبت به CNF می‌باشد. همچنین در ساختار LCNF علاوه بر زنجیره‌های سلولز، همی سلولز و لیگنین نیز وجود دارد در نتیجه نسبت به CNF خاصیت آب‌دوستی کمتری دارد، بنابراین مجموعه این عوامل می‌تواند بر کاهش بیشتر WVP در نانوکامپوزیت‌های CH-EO-LCNF موثر باشد. کاهش نفوذپذیری به بخار آب در نتیجه افزودن نانوفیبرها به بیوپلیمرهای زیستی توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Jafari et al., 2016; Salaberria et al, 2015).



شکل 5- تاثیر الف) نوع و غلظت اسانس و ب) نوع نانوفیبر آلی بر میزان نفوذپذیری فیلم‌های کیتوزان نسبت به بخار آب.

فیلم فعال CH-CEO مقدار UTS برابر 25/15 مگاپاسگال به‌دست آمد. همانطور که در شکل 6؛ الف مشاهده می‌شود بیشترین مقدار برای ویژگی UTS زمانی مشاهده شد که حالت 50:50 ترکیب دو اسانس در ساختار فیلم فعال به‌کار برده شده است و با کاهش یا افزایش یکی از اسانس‌های مقدار این پارامتر روند کاهشی داشته است. در مورد ویژگی STB نیز مشاهده شد که افزودن 5 درصد اسانس زنیان منجر به کاهش آن نسبت به نمونه کنترل شد، درحالی‌که اسانس مرزنجوش این پارامتر را افزایش داد (شکل 6؛ ب) اگرچه این اختلاف معنی‌دار نبود. بر اساس تحقیقات انجام شده، اسانس‌های مختلف اثرات متفاوتی بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم کیتوزان دارد. به‌عنوان مثال اسانس دارچین سبب بهبود استحکام کششی فیلم‌های کیتوزانی می‌شود ولی میزان کشش پذیری فیلم‌ها را کاهش می‌دهد (Ojagh et al, 2010) که مشابه اثر اسانس زنیان در تحقیق حاضر می‌باشد. در حالی‌که اسانس آویشن و میخک باعث کاهش استحکام

بوده و بسته به نوع پلیمر نیز با افزودن اسانس‌هایی مختلف نتایج مختلفی خواهد داشت.

آنالیز داده‌ها همچنین نشان داد که نانوفیبرهای آلی نیز در غلظت 4 % تاثیر معنی‌داری بر کاهش WVP نسبت به نمونه کنترل و فیلم‌های فعال داشتند، به‌طوری‌که کمترین میزان این پارامتر در نانوکامپوزیت CH-CGEO-LCNF با نسبت 3/75 اسانس مرزنجوش و 1/25 اسانس زنیان به‌دست آمد که برابر $0/95 \times 10^{-5} \text{ g mm/m}^2 \text{ h Pa}$ بود. فاکتورهای مختلفی از جمله نسبت گروه‌های هیدروفیل و هیدروفوب، تخلخل، مسیرهای پیچ و خم (انحناء) و شکاف‌های موجود در ساختار فیلم در میزان نفوذپذیری فیلم‌های خوراکی نسبت به بخار آب موثر هستند (Almasi et al, 2016).

ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها

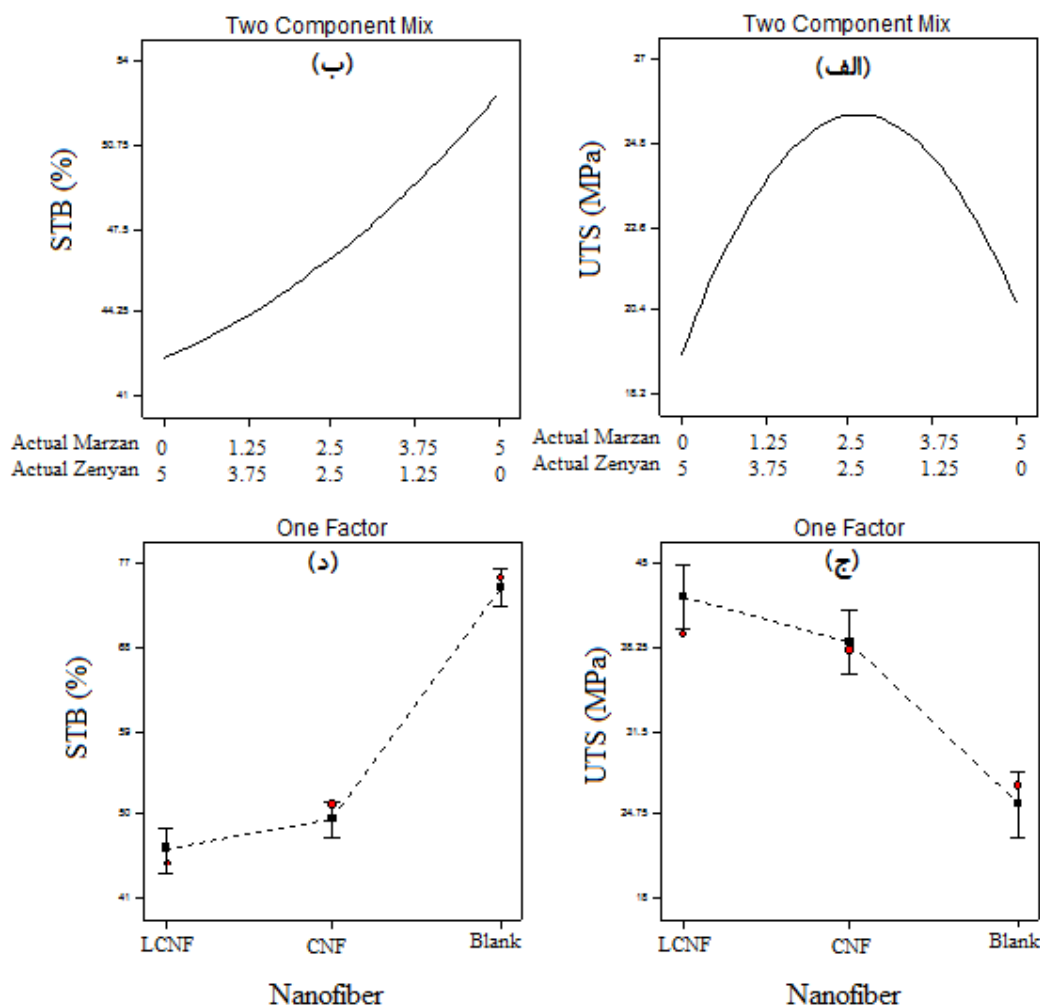
استحکام کششی¹ و کشش‌پذیری² از پارامترهای مهم فیلم‌ها هستند که می‌تواند به‌عنوان شاخصی از فیلم برای حفظ یکپارچگی و مقاومت فیلم در برابر استرس‌های محیطی در طی کاربردهای بسته‌بندی به‌کار رود. نتایج نشان داد که میزان استحکام کششی (UTS) و درصد ازدیاد طول در نقطه پارگی (STB) برای فیلم خالص کیتوزان به‌ترتیب برابر 21/56 مگاپاسگال، 52/2 درصد بود. اثر افزودن اسانس‌ها به‌طور جداگانه در غلظت 5% نشان داد که به‌طور کلی اسانس مرزنجوش منجر به کاهش غیرمعنی‌داری در میزان UTS فیلم نسبت به نمونه شاهد گردید، در حالی‌که اسانس زنیان منجر به افزایش معنی‌داری در میزان UTS فیلم کیتوزان شد و در

¹ Ultimate tensile strength

² strain to break

تشکیل دهنده آن و برهمکنش‌های ویژه بین ترکیبات اسانس و زنجیره پلیمر مربوط می‌شود که در واقع تحت تاثیر میزان رطوبت، حضور سورفاکتانت‌ها، دما و غیره نیز قرار می‌گیرد (Abdollahi et al., 2012).

کششی فیلم کیتوزان شده ولی STB را افزایش می‌دهند (Hosseini et al, 2009) که تقریباً رفتاری مشابه اسانس مرزنجوش بخارایی مورد استفاده در این پژوهش را داشته است. این میزان تفاوت در رفتار اثر اسانس‌ها بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم، به نوع کیتوزان مورد استفاده (وزن مولکولی و حلال)، مقدار اسانس و ترکیبات شیمیایی



شکل 6- تاثیر نوع اسانس و نانوفیبرهای آلی بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های بر پایه کیتوزان.

باشد. افزایش استحکام کششی نانوکامپوزیت‌ها نیز نشان دهنده پخش یکنواخت نانوفیبرها در ماتریس پلیمر و برهمکنش چسبندگی خوب بین نانوفیبر و پلیمر می‌باشد (Jafari et al, 2016). همچنین این بهبود ویژگی‌های مکانیکی را می‌توان با مورفولوژی ذاتی سلولز و لیگنوسلولز، شبکه نانوفیبری آن‌ها و تشابه ساختاری این پلی‌ساکاریدها با پلیمر کیتوزان نیز توجیه نمود. بهبود ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های خوراکی با افزودن نانوفیبرهای آلی توسط سایر

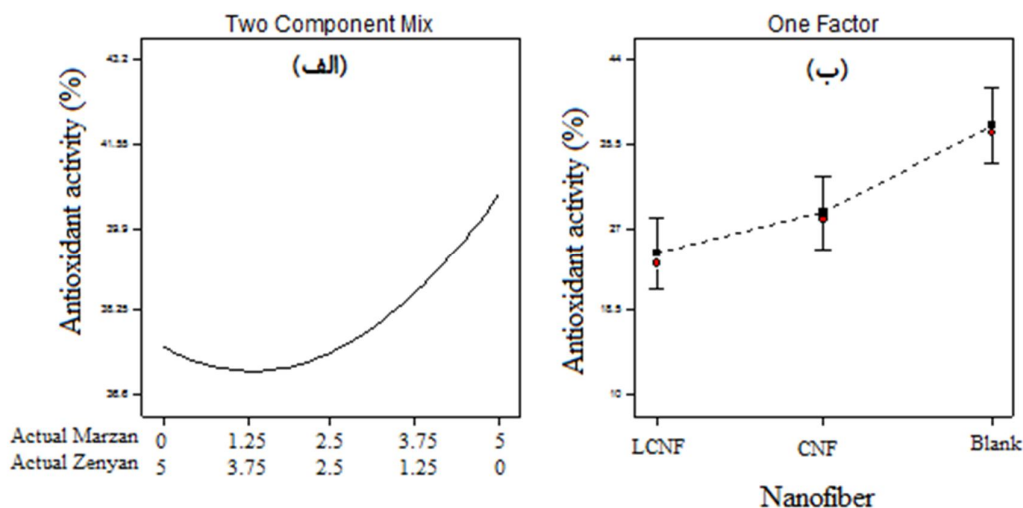
نتایج همچنین نشان داد که با افزودن نانوفیبرهای آلی به بستر فیلم کیتوزان، میزان UTS افزایش ولی مقدار STB به‌طور قابل توجهی کاهش یافت که نشان دهنده افزایش مقاومت مکانیکی فیلم‌های نانوکامپوزیت نسبت به فیلم‌های فعال و فیلم خالص کیتوزان می‌باشد (شکل 6؛ ج و د). کاهش در مقدار درصد کشش فیلم‌های نانوکامپوزیت ممکن است به دلیل افزایش پیوندهای بین رشته‌ای و در نتیجه محدود شدن تحرک رشته‌های پلیمر کیتوزان

واکنش داده و فرم پایدار رادیکال ماکرومولکول را تشکیل دهد، در نتیجه گروه‌های NH_2 از طریق جذب هیدروژن از محلول می‌توانند به فرم آمونیوم (NH_4^+) تبدیل شوند (Ruiz-Navajas et al., 2013). با افزودن نسبت‌های مختلف اسانس زنیان و مرزنجوش، فعالیت مهارکنندگی فیلم‌های کیتوزان به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد ($p < 0/05$) و بسته به ترکیب دو اسانس و نوع نانوفیبر در محدوده 10/29-43/18 درصد اندازه‌گیری شد که ناشی از ترکیبات عمده تشکیل‌دهنده اسانس‌ها مانند کارواکرول، تیمول، گاما-تریپن، ام-سیمن و آلفاپینن می‌باشد. همانطور که در شکل 7؛ الف مشاهده می‌شود اثر اسانس مرزنجوش در افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها بیشتر از اسانس زنیان بود، به‌طوری‌که با افزایش مقدار اسانس مرزنجوش (در مخلوط ثابت 5 درصد اسانس) بر میزان فعالیت مهارکنندگی فیلم‌ها افزوده شد و بیشترین مقدار این پارامتر که برابر 43/18 درصد بود به فیلم CH-GEO تعلق داشت. نتایج اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها به‌صورت خالص نیز این موضوع را تایید می‌کند به‌طوری‌که مقدار IC_{50} برای اسانس مرزنجوش بخارایی و زنیان به‌ترتیب برابر $0/53 \mu\text{L/ml}$ و $1/21 \mu\text{L/ml}$ اندازه‌گیری شد. Gómez-Estaca و همکاران (2009) گزارش دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های خوراکی به نوع و مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده در ساختار فیلم و طبیعت آنتی‌اکسیدانی ذاتی پلیمر، بستگی دارد.

محققان نیز گزارش شده است (Chang et al, 2010; Jafari et al., 2016; Ballner et al., 2016). نتایج همچنین نشان داد که اثر نانوتقویت‌کننده LCNF در بهبود ویژگی‌های مکانیکی نانوکامپوزیت‌ها بیشتر از CNF بود. این رفتار قابل انتظار مربوط به مقاومت ذاتی و نحوه جهت‌گیری زنجیره‌های LCNF می‌باشد. علاوه بر این بالاتر بودن خاصیت هیدروفوب LCNF به دلیل وجود لیگنین و همی‌سلولز نامحلول، تمایل این نانوفیبر را به برهمکنش با پلیمر کیتوزان بیشتر می‌کند، بنابراین بصورت یکنواخت در بستر پلیمر پخش شده و با ایجاد اتصالات عرضی بیشتر، موثرتر از CNF عمل می‌کند (Azerdo et al., 2010)

خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها

قرار دادن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در داخل بسته‌بندی‌های مواد غذایی جهت کنترل اکسیداسیون چربی‌ها و رنگدانه‌های مواد غذایی، منجر به حفظ کیفیت محصولات غذایی می‌گردد. نتایج ظرفیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های کیتوزانی حاوی اسانس زنیان و مرزنجوش بخارایی در ترکیب با نانوتقویت‌کننده CNF یا LCNF در شکل 7 نشان داده شده است. فعالیت مهارکنندگی فیلم کیتوزان خالص برابر 2/85 درصد بود که در مقایسه با سایر پلیمرها این ویژگی برای کیتوزان و برخی فیلم‌های پروتئینی منحصر به فرد می‌باشد. فعالیت مهارکنندگی کیتوزان خالص مربوط به این واقعیت است که رادیکال آزاد می‌تواند با گروه‌های آمین (NH_2) باقیمانده در ساختار کیتوزان



شکل 7- تاثیر (الف) نوع و غلظت اسانس و (ب) نوع نانوفیبر آلی بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد فیلم‌های بر پایه کیتوزان.

این نانوفیبرها داشتند (شکل 7؛ ب) که حاکی از نقش کنترل‌کنندگی رهاپش ترکیبات اسانس توسط نانوفیبرها می‌باشد. در این بین اثر

نتایج نشان داد که فیلم‌های فعال حاوی نانوتقویت‌کننده CNF یا LCNF فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به فیلم‌های فعال فاقد

کیتوزان، افزایش قابل توجهی نشان داد که به دلیل انتشار ترکیبات فعال اسانس‌ها از طریق ژل آگار می‌باشد (جدول 2). همانطور که از نتایج نیز می‌توان استنباط کرد در غلظت ثابت، خاصیت ضد میکروبی اسانس زنیان به‌طور قابل توجهی بیشتر از اسانس مرزنجوش است، در حالیکه بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی این دو اسانس نشان داد که فعالیت مهارکنندگی اسانس مرزنجوش حدود 2/5 برابر اسانس زنیان می‌باشد. به‌طور کلی اسانس‌هایی روغنی دارای ویژگی هیدروفوبیک هستند که آن‌ها را قادر می‌سازد با ساختارهای لیپیدی مانند غشاء سلولی باکتری‌ها، میتوکندری و سایر ترکیبات درون سلولی واکنش دهند و در نتیجه منجر به تجزیه ساختار سلولی، تراوش ترکیبات درون سلول باکتری به خارج آن، تغییر بار یونی سلول، جلوگیری از تنفس سلولی و دگرگونی در نفوذپذیری غشاء سلولی شده و در نهایت منتهی به مرگ سلول باکتری می‌شود (Burt, 2004).

نتایج همچنین نشان داد که با افزودن 4% نانوفیبر آلای CNF یا LCNF به ساختار فیلم، اثر آنتی میکروبی فیلم‌های نانوکامپوزیت به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت (جدول 2). این نتایج نشان می‌دهد که نانوتقویت‌کننده‌ها به‌عنوان عوامل کنترل‌کننده رهایش ترکیبات فعال آنتی میکروبی / آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و در نتیجه مقدار کمتری از این ترکیبات در مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، از نانوکامپوزیت‌ها به داخل ژل آگار منتشر می‌شوند. همچنین باند‌های هیدروژنی تشکیل شده بین گروه‌های کربوکسیل کیتوزان و نانوفیبرها، منجر به انسجام بیشتر ساختار نانوکامپوزیت‌ها می‌شود، بنابراین مولکول‌های فعال اسانس‌ها بایستی مسیر پر پیچ و خم و طولانی‌تری را در طول فیلم‌های نانوکامپوزیت طی کنند تا وارد ژل آگار گردند که نتیجه آن کاهش نرخ انتشار عوامل آنتی میکروبی و کاهش قطر هاله عدم رشد می‌باشد (Alboofetileh et al., 2014). بر اساس گزارش Alboofetileh و همکاران (2014)، فاکتورهای مختلفی مانند ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها، نوع باکتری، خصوصیات ماتریس فیلم‌ها، روش و شرایط تولید فیلم‌ها بر ویژگی‌های آنتی میکروبی فیلم‌های خوراکی موثر می‌باشد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که *B. cereus* (گرم مثبت) مقاومت کمتری در مقایسه با *E. coli* O 157: H7 (گرم منفی) در مقابل اثر ضدباکتریایی فیلم‌های حاوی اسانس داشت، به‌طوری‌که برای باکتری گرم مثبت *B. cereus* قطر هاله عدم رشد برای همه فیلم‌ها در محدوده 5/08 الی 20/78 میلی‌متر بدست آمد ولی برای باکتری گرم منفی *E. coli* O 157: H7 قطر هاله 3/74 الی 15/38 میلی‌متر بود. این تفاوت می‌تواند به این واقعیت مربوط باشد که باکتری‌های گرم منفی به دلیل دیواره خارجی لیپوساکاریدی که اطراف دیواره پپتید و گلیکانی باکتری را احاطه کرده است مقاومت بیشتری در مقابل عوامل ضدباکتریایی دارد (Burt, 2004).

جدول 2- خواص آنتی میکروبی فیلم‌های فعال و نانوکامپوزیت‌های فعال کیتوزان حاوی نسبت‌های مختلفی از اسانس زنیان و مرزنجوش در ترکیب

LCNF در کنترل رهایش اسانس از فیلم‌های نانوکامپوزیت بیشتر از CNF بوده است اگرچه در برخی موارد این اختلاف معنی‌دار نبود، که این امر به دلیل سازگاری و قابلیت پخش بهتر LCNF در ماتریس کیتوزان می‌باشد. نانوفیبرها با مکانیسم‌های مختلفی می‌توانند سرعت انتشار ترکیبات اسانس از نانوکامپوزیت‌ها را تحت تاثیر قرار دهند که از جمله مهمترین آن‌ها می‌توان به این موارد اشاره کرد؛ (1) ایجاد مسیرهای پر پیچ و خم در مسیر حرکت اسانس در ماتریس کیتوزان، که این مورد مهمترین مکانیسم برای رهایش کنترل شده در اثر نانوتقویت‌کننده‌های آلای می‌باشد (2) برهمکنش بین نانوفیبرها و ترکیبات اسانس (3) افزایش خاصیت کریستالی زنجیره مولکولی کیتوزان که منجر به کاهش سیالت مولکولی اسانس می‌شود (4) کاهش تخلخل ماتریس کیتوزان و افزایش انسجام ساختاری فیلم به دلیل پیوندهای عرضی بین نانوفیبرها و شبکه پلیمر (Almasi et al., 2014).

اثر ضد میکروبی فیلم‌ها

نتایج فعالیت ضد میکروبی فیلم فعال کیتوزان و نانوکامپوزیت‌های آن بر باکتری گرم منفی *E. coli* O 157: H7 و باکتری گرم مثبت *B. cereus* در جدول 2، نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود فیلم خالص کیتوزان در مقابل هر دو نوع باکتری مورد مطالعه موثر بود و هاله‌ای به قطر 3/74 و 5/08 میلی‌متر به‌ترتیب برای باکتری‌های *E. coli* O 157: H7 و *B. cereus* تشکیل گردید. نتایج گزارش‌ها نشان می‌دهد که کیتوزان دارای فعالیت ضد میکروبی مناسب بوده و با موفقیت به‌عنوان یک ماده بسته‌بندی برای حفظ کیفیت انواع مواد غذایی استفاده شده است. در منابع علمی نظرات متفاوتی در مورد فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های کیتوزانی بیان شده است. برای مثال Wang و همکاران (2011) و Ojagh و همکاران (2010) گزارش کردند که اختلاف معنی‌داری از نظر قطر هاله عدم رشد برای اثر فیلم کیتوزان خالص بر روی برخی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت مشاهده نشد. در حالیکه Genskowski و همکاران (2015) بیان کردند که فیلم‌های کیتوزان خالص فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی بر روی باکتری‌های *Bacillus subtilis*، *E. coli* و *S. aureus* داشت. خاصیت ضد میکروبی کیتوزان به دلیل بار مثبت گروه‌های آمین است که منجر به آسیب DNA میکروارگانیسم‌ها می‌گردد (Genskowski et al, 2015). نوع کیتوزان و به‌ویژه درجه استیل‌اسیون آن، وزن مولکولی، ارگانسیسم هدف و شرایط محیطی که مورد استفاده قرار می‌گیرد، فعالیت ضد میکروبی کیتوزان را به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر قرار می‌دهد. اثر ممانعت‌کنندگی از رشد باکتری‌ها توسط فیلم‌ها، با افزودن 5% اسانس مرزنجوش و زنیان به‌صورت جداگانه و ترکیبی به ماتریس

با نانوفیبرهای آلی به روش انتشار دیسک

ردیف	اسانس مرزنجوش	اسانس زنیان	نانوفیبر آلی	قطر هاله عدم رشد (mm)	
				<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>
شاهد	0	0	0	5/08	3/74
1	0	5	LCNF	15/38	11/68
2	2/5	2/5	CNF	15/23	12/1
3	3/75	1/25	CNF	14/16	10/85
4	0	5	CNF	17/97	13/88
5	1/25	3/75	CNF	16/5	13/08
6	5	0	CNF	13/34	9/26
7	2/5	2/5	Blank*	18/78	14/4
8	2/5	2/5	LCNF	14/26	10/98
9	5	0	LCNF	12/89	8/78
10	5	0	Blank	14/08	11/22
11	0	5	LCNF	15/5	11/75
12	5	0	LCNF	12/98	8/37
13	1/25	3/75	LCNF	14/95	11/03
14	5	0	Blank	13/73	11/29
15	3/75	1/25	LCNF	13/75	9/25
16	3/75	1/25	Blank	15/56	13/05
17	5	0	CNF	13/67	9/45
18	0	5	Blank	20/78	15/38
19	0	5	Blank	20/1	15/26

* فیلم‌های فعال بدون نانوفیبر

بهینه‌سازی

شرایط عملیاتی بهینه برای فیلم‌های کیتوزان با استفاده از متغیرهای مستقل اسانس مرزنجوش بخارایی، اسانس زنیان و نوع نانوفیبر آلی بر ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های مورد مطالعه با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی³ نرم‌افزار Design Expert جستجو شد. بدین منظور، در ابتدا اهداف بهینه‌سازی را مشخص کرده و سپس سطوح پاسخ‌ها و متغیرهای مستقل تنظیم شد. نتایج بهینه‌سازی تیمارهای مختلف فیلم کیتوزان با مطلوبیت مرکب⁴ برابر 60% در جدول 3 نشان داده شده است. برای فیلم بهینه مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی، حلالیت و WVP به‌ترتیب برابر 24/29 درصد، 20/83 درصد، $1/32 \times 10^{-5}$ g mm/m² h Pa و میزان ویژگی‌های مکانیکی UST و STB به‌ترتیب برابر 42/06 مگاپاسگال و 53/5 درصد و قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های *B. cereus* و *E. coli* به‌ترتیب 10/41 mm و 14/26 mm به‌دست آمد. فیلم نانوکامپوزیت بهینه

به‌صورت CH-CGEO-LCNF در بخش پایداری اکسیداتیو روغن نشان داده شده است.

جدول 3- نتایج به‌دست آمده از فرآیند بهینه‌سازی فیلم نانوکامپوزیت

متغیر مستقل	حداقل	حداکثر	مقدار بهینه
اسانس مرزنجوش (%)	0	5	2/71
اسانس زنیان (%)	0	5	2/29
نانوفیبر آلی	LCNF, CNF, Blank		
مطلوبیت مرکب	60 %		

اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV) روغن کلزا

یکی از کاربردهایی که برای فیلم‌های حاوی اسانس به تازگی به آن توجه شده، توانایی محافظتی آن‌ها در برابر اکسیداسیون روغن‌های مایع و چربی‌ها است. اسانس‌ها در طی زمان این توانایی را دارند که از سطح فیلم به داخل محیط وارد شوند و به این ترتیب در طی زمان با آزاد شدن تدریجی اسانس باعث جلوگیری از واکنش‌های

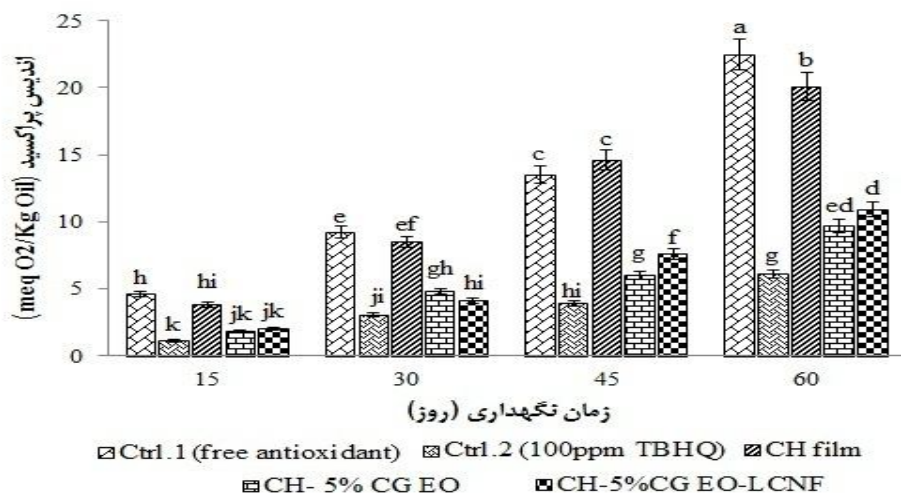
³ Numerical optimization

⁴ Desirability

اختلاف غیرمعنی‌دار خواهد بود. بنابراین استفاده از فیلم فعال می‌تواند آنتی اکسیدان را نه در مراحل اولیه نگهداری بلکه پس از گذشت زمان‌های طولانی‌تر که احتمال فساد اکسیداتیو افزایش پیدا می‌کند، آزاد کرده و در نتیجه ماندگاری روغن را برای مدت زمان بیشتری افزایش دهد.

Atarés و همکاران (2010) در بررسی اثر فیلم کازئینات سدیم حاوی اسانس‌هایی زنجبیل و دارچین بر روند اکسیداسیون روغن افتابگردان مشاهده کردند که نمونه پوشیده شده با این فیلم‌ها نسبت به نمونه بدون پوشش فیلم، به‌طور قابل توجهی توانستند اکسیداسیون را کاهش دهند. تحقیقات سایر محققان نیز نشان داده است که فیلم‌های حاوی اسانس و ترکیبات فعال دیگر توانایی خوبی در کاهش روند اکسیداسیون داشته‌اند (Atares et al, 2011; Pires et al, 2013). نکته قابل توجه دیگر این است که با وجود اختلاف معنی‌دار در فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو نوع روغن در تماس با فیلم فعال CH-CGEO و نانوکامپوزیت CH-CGEO-LCNF (فیلم بهینه)، تفاوت معنی‌داری در میزان پراکسید این دو نوع روغن در طول نگهداری مشاهده نمی‌شود، به‌طوریکه مقدار پراکسید برای فیلم فعال CH-CGEO و نانوکامپوزیت CH-CGEO-LCNF پس از 60 روز نگهداری به‌ترتیب برابر 9/7 و 10/9 meq O₂/kg و اندازه‌گیری شد. بنابراین می‌توان استنباط کرد که میزان کمتر اسانس مهاجرت کرده از فیلم نانوکامپوزیت CH-CGEO-LCNF برای ممانعت از اکسیداسیون روغن در طول 2 ماه نگهداری کافی بوده و غلظت بیشتر اسانس در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن کلزا تاثیری نداشته است.

زنجیره‌های رادیکال‌های آزاد در داخل روغن می‌شوند (Pires et al, 2013). شکل 8 نشانگر استفاده از فیلم‌های فعال آنتی‌اکسیدانی روی عدد پراکسید روغن کلزا طی نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 60 روز می‌باشد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف بر میزان عدد پراکسید روغن کلزا طی زمان نگهداری معنی‌دار بود ($p < 0/05$). همانطور که مشاهده می‌شود به‌طور کلی عدد پراکسید همه نمونه‌های روغن در طول 2 ماه نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0/05$)، و در این بین بیشترین نرخ افزایش به نمونه روغن فاقد آنتی‌اکسیدان و سپس نمونه روغن در تماس با فیلم کیتوزان خالص تعلق داشت که در پایان دوره نگهداری به‌ترتیب برابر 22/5 و 20/1 meq O₂/kg بدست آمد (شکل 8). میزان اندیس پراکسید نمونه روغن حاوی 100ppm آنتی‌اکسیدان TBHQ در طول 2 ماه نگهداری از مقدار اولیه 0/33 به مقدار 6/1 meq O₂/kg رسید که در بین همه تیمارها کمترین مقدار بود. طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد که عدد پراکسید نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال نیز با افزایش زمان نگهداری افزایش یافت، بدین صورت که با افزایش میزان اسانس مهاجرت کرده به داخل روغن کلزا، شدت اکسیداسیون آن کاهش یافت، به‌طوری‌که با افزایش زمان نگهداری (روز 60 ام)، به‌دلیل حضور غلظت کافی آنتی‌اکسیدان، اختلاف بین روغن در تماس با فیلم‌های فعال حاوی 5% اسانس و نمونه حاوی 100ppm آنتی‌اکسیدان TBHQ از نظر میزان عدد پراکسید کاهش یافت و با ادامه این روند در صورت بیشتر بودن زمان نگهداری (6-5 ماه) این



شکل 8- میزان عدد پراکسید نمونه‌های روغن شاهد (Ctrl.1) روغن کلزای تصفیه شده و بدون آنتی‌اکسیدان، Ctrl.2 روغن کلزای معمولی حاوی TBHQ 100ppm و نمونه‌های در تماس با فیلم‌های فعال آنتی‌اکسیدانی حاوی اسانس زنیان و مرزنجوش

نتیجه‌گیری

نتایج آزمون XRD و DSC اثبات کردند که بهبودهای حاصل

B.cereus فیلم‌های کیتوزان به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد و در این بین اثر اسانس مرزنجوش در افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها بیشتر از اسانس زنیان بود، در حالیکه اثر ضد میکروبی اسانس زنیان بیشتر بود. با توجه به نتایج این مطالعه به‌نظر می‌رسد نانوکامپوزیت کیتوزان/ نانوفیبر آلای حاوی 5% اسانس زنیان و مرزنجوش پتانسیل فراوانی جهت کاربرد در بسته‌بندی مواد غذایی دارد، که با بررسی نانوکامپوزیت بهینه بر پایداری اکسیداتیو روغن در طول 2 ماه نگهداری در دمای محیط این موضوع مورد تایید قرار گرفت.

شده در خواص فیلم‌ها در درجه اول بوسیله پراکنش یکنواخت نانوفیبرها و سپس از طریق واکنش این نانوتقویت‌کننده‌ها با گروه‌های هیدروکسیل و آمید زنجیره‌های کیتوزانی و ایجاد اتصالات عرضی مناسب در شبکه پلیمری ایجاد شده است. همچنین تحقیق حاضر نشان داد که افزودن اسانس زنیان و مرزنجوش در ترکیب با نانوفیبرهای CNF و یا LCNF در مقادیر کم به‌طور قابل ملاحظه‌ای موجب بهبود خواص مکانیکی و فیزیکی فیلم‌های کیتوزانی شده و از میزان حساسیت آنها نسبت به رطوبت کاست. با افزودن نسبت‌های مختلف اسانس زنیان و مرزنجوش، فعالیت مهارکنندگی و اثر ممانعت‌کنندگی از رشد باکتری‌های *H7: O 157: E.coli* و

منابع

- بقایی، ه.، آقایی، ف.، صداقت، ن.، محبی، م.، 1391، بررسی اثر افزودن اسانس سیر بر ویژگی‌های فیزیکی-مکانیکی، میکروبی و حسی فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد 8، شماره 3: 287-279.
- دهاند، د.، میرزایی، ح.، امام جمعه، ز.، جعفری، س.، م.، داداشی، س.، 1392، بررسی ویژگی‌های حرارتی و ضد میکروبی نانوکامپوزیت‌های کیتوزان - نانوسلولز و تأثیر آن در افزایش مدت ماندگاری گوشت چرخ‌کرده. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال هشتم، شماره 4: 173-163.
- Abdollahi, M., Rezaei, M., Farzi, G., 2012, Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 847-853.
- Abdul Khalil, H.P.S., Bhat, A.H., and Ireana Yusra, A.F., 2012, Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate Polymers*. 87, 963-979.
- Alboofetileh, M., Rezaei, M., Hosseini, H., & Abdollahi, M., 2014, Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. *Food Control*, 36, 1-7.
- Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., Dehghannya, J., Entezami, A., & Khosrowshahi Asl, A., 2014, Development of a novel controlled-release nanocomposite based on poly(lactic acid) to increase the oxidative stability of soybean oil. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31(9), 1586-1597.
- Almasi, H., Zandi, M., Beigzadeh, S., Haghju, S., Mehrnow, N., 2016, Chitosan films incorporated with nettle (*Urtica Dioica* L.) extract-loaded nanoliposomes: II. Antioxidant activity and release properties. *Journal of microencapsulation*, 1-11.
- ASTM. 2010, Annual book of ASTM standards. Pennsylvania: American Society for Testing and Materials.
- Atares, L., De Jesús, C., Talens, P., & Chiralt, A., 2010, Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of food engineering*, 99, 384-391.
- Azeredo, H.M.C., Mattoso, L. H. C., Wood, D., Williams, T. G., Avena-Bustillos, R. J., McHugh T. H. 2010. Nanocellulose Reinforced Chitosan Composite Films as Affected by Nanofiller Loading and Plasticizer Content. *Journal of Food Science*, 75: 1-7.
- Ballner, D., Herzele, S., Keckes, J., Edler, M., Griesser, T., Saake, B., 2016, Lignocellulose nanofiber-reinforced polystyrene produced from composite microspheres obtained in suspension polymerization shows superior mechanical performance. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 8(21), 13520-13525.
- Beikzadeh Ghelejlou, S., Esmaili, M., Almasi, H., 2016, Characterization of chitosan-nanoclay bionanocomposite active films containing milk thistle extract. *International Journal of Biological Macromolecules*. 86, 613-621.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
- Byun, Y., Kim, Y.T., and Whiteside, S., 2010, Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal of Food Engineering*. 100, 239-244.
- Celebi, H., Kurt A., 2015, Effects of processing on the properties of chitosan/cellulose nanocrystal films. *Carbohydrate polymers*, 20(133); 284-293.
- Chang, P. R., Jian, R., Yu, J., & Ma, X., 2010, Starch-based composites reinforced with novel chitin nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 80, 420-425.
- Cherian, B. M., Leao, A. L., de Souza, S. F., Costa, L. M. M., de Olyveira, G. M., and Kottaisamy, M., 2011, Cellulose nanocomposites with nanofibers isolated from pineapple leaf fibers for medical applications. *Carbohydrate Polymers*. 86(4), 1790-1798.

- Dashipour, A., Khaksar, R., Hosseini, H., Shojae-Aliabadi, S., Ghanati, K., 2014, Physical, antioxidant and antimicrobial characteristics of carboxymethyl cellulose edible film cooperated with clove essential oil. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 16 (8); 34–42.
- Dhawade, P. P., Jagtap R. N., 2012, Characterization of the glass transition temperature of chitosan and its oligomers by temperature modulated differential scanning calorimetry. *Advances in Applied Science Research*, 3 (3):1372-1382.
- Fabra, M.J., Talens P., Chiralt A., 2009, Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures, *Food Hydrocolloids*. 23 (3); 676–683.
- Gemili, S., Yemenicioglu, A., and Altunkaya, S.A. 2010, Development of antioxidant food packaging materials with controlled release properties. *Journal of Food Engineering*. 96, 325-332.
- Genskowsky, E., Puente, L.A., Perez-Alvarez, Fernandez-Lopez J.A., J., Munoz L.A., Viuda-Martos, M., 2015, Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristotelia chilensis*). *LWT-Food Science and Technology*, 64;1057-1062.
- Gómez-Estaca J., Gimnez B., Montero P., Gómez-Guillén M.C., 2009, Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering*. 92, 78–85.
- Gomez-Guillen, M. C., Ihl, M., Bifani, V., Silva, A., & Montero, P., 2007, Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murtaecotypes leaves (*Ugni molinae Turcz*). *Food Hydrocolloids*, 21, 1133–1143.
- Goudarzi GR, Saharkhiz MJ, Sattari M, Zomorodian K., 2011, Antibacterial activity and chemical composition of Ajowan (*Carum copticum* benth. & hook) essential oil. *J Med Plant Res*;13:203–208.
- Hosseini, M., Razavi, S., & Mousavi, M., 2009, Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33,727–743.
- Iwamoto, S., & Endo, T., 2015, 3 nm thick lignocellulose nano fibers obtained from esterified wood with maleic anhydride. *ACS Macro Letters*, 4(1), 80–83.
- Jafari, H., Pirouzifard, M., Alizadeh Khaledabad, M. A., & Almasi, H., 2016, Effect of chitin nanofiber on the morphological and physical properties of chitosan/silver nanoparticle bionanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 461–466.
- Kalemba D, Kunicka A., 2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem*; 10: 813 - 29.
- Khajeh, M., Yamini, Y., Sefidkon, F., & Bahramifar, N., 2004, Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 86, 587–591.
- Kumagai, A., Lee, S.-H., & Endo, T., 2016, Evaluation of the effect of hot-compressed water treatment on enzymatic hydrolysis of lignocellulosic nanofibrils with different lignin content using a quartz crystal microbalance. *Biotechnology and Bioengineering*, 113(7), 1441–1447.
- López-Mata, M. A., Ruiz-Cruz, S., & Silva-Beltrán, N. P., 2013, Physicochemical:Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with carvacrol. *Molecules*, 18, 13735–13753.
- Moradi, M., Hassani, A., Sefidkon F., Maroofi H., 2015, Chemical composition of leaves and flowers essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18 (1); 242–247.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H., 2010, Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122, 161–166.
- Pereda M., Amica G., Marcovich N.E., 2012, Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. *Carbohydrate Polymers*, 87 (2),1318–1325.
- Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M.L.A.M., 2013, Hake proteins edible films incorporated with essential oils: physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, 30, 224-31.
- Rhim, J., & Ng, P., 2007, Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4), 411-433.
- Ruiz-Navajas Y., Viuda-Martos M., Sendra E., Perez-Alvarez J.A., 2013, In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*, 30, 386–392.
- Salaberria, A. M., Diaz, R. H., Labidi, J., & Fernandes, S. C., 2015, Preparing valuable renewable nanocomposite films based exclusively on oceanic biomass - chitin nanofillers and chitosan. *Reactive and Functional Polymers*, 89, 31–39.
- Solikhin, A., Hadi, Y. S., Massijaya, M. Y., & Nikmatin, S., 2017, Novel isolation of empty fruit bunch lignocellulose nanofibers using different vibration milling times-assisted multimechanical stages. *Waste and Biomass Valorization*, 8 (7); 2451-2462.
- Souza, C.O., Silva, L.T., Silva, J.R., Lopez, J.A., Veiga-Santos, P., and Druzian, J. I., 2011, Mango and acerola pulps as antioxidant additives in cassava starch bio-based Film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59, 2248-2254.
- Tang, C., Liu, H., 2008, Cellulose nanofiber reinforced poly(vinyl alcohol) composite film with high visible light

- transmittance. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 39 (10);1638-1643.
- Wang, L., Liu, F., Jiang, Y., Chai, Z., Li, P., & Cheng, Y., 2011, Synergistic antimicrobial activities of natural essential oils with chitosan films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 12411–12419.
- Wu, J., Sun, X., Guo, X., Ge, S., Zhang, Q., 2017, Physicochemical properties, antimicrobial activity and oil release of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil. *Aquaculture and Fisheries*, 2(4); 185-192.



Producing and optimizing the properties of chitosan-organic nanofiber biodegradable nanocomposite based containing *O. vulgare subsp. gracile* and *C. copticum* essential oils and its application on the oxidative stability of Canola oil

E. Jahed^{*1}, H. Almasi², M. Alizadeh khaledabad³

Received: 2018.02.25

Accepted: 2018.06.24

Introduction: Due to increasing attention to the environment, as well as consumer demand for healthy, nutritive food products and extended shelf life, in the recent years, the food and packaging industries have paid increasing attention to biodegradable edible packaging prepared from biopolymers such as proteins, polysaccharides, and lipids or their combinations. These biodegradable films may act as carrier of wide variety of additives, such as antimicrobial, antioxidant agents, flavors, colorants and spices which improve the functionality of the packaging materials by addition of novel or extra functions. In the present study, an antioxidant/antimicrobial active packaging based on chitosan biopolymer was designed. For this purpose, lignocellulose nanofibers (LCNF) and cellulose nanofibers (CNF) at concentration of 4% were used as reinforcement of biopolymer properties, as well as to control the release of *Origanum vulgare subsp. gracile* and *Carum copticum* essential oils (as antioxidant/antimicrobial agent) from the packaging material into the foodstuff.

Materials and methods: The *O. vulgare ssp. gracile* leaves and *C. copticum* seeds were obtained from wild plants in mountains of Urmia (Iran). LCNF (average diameter about 55 nm, average length about 2–5 μ m, 99% purity) produced from unbleached hardwood pulp through mechanical and acid treatments and CNF (average diameter about 28 nm, average length about 2–3 μ m, 99% purity) prepared from softwoods through mechanical disintegration were kindly provided by Nano Novin Polymer Co. (Saari, Iran). Chitosan (medium molecular weight, from shrimp shell with a deacetylation degree of 75–85%), purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Chitosan based bionanocomposite films incorporated with organic nanofillers and essential oils were developed by solvent casting method. The synthesized films were characterized by XRD and DSC analyses. To determine the prepared films would have potential to be used as an active packaging, water vapor permeability, water solubility, color, transparency, mechanical properties, antimicrobial and antioxidant activity of the films were also evaluated. In order to determine the efficiency of activated nanocomposites, the effect of these films was evaluated on the oxidative stability of rapeseed oil without antioxidants and compared with the effect of TBHQ synthetic antioxidant.

Results & Discussion: The results showed that the addition of essential oils did not have a significant effect on the crystallinity and thermal properties of the films, while organic reinforcement increased the crystalline properties and thermal resistance of nanocomposite films. By applying the essential oils and CNF and LCNF in the structure of the films, the apparent transparency and consequently the amount of light passage from them decreased compared to the control sample. With addition of essential oils separately and in combination, as well as CNF and LCNF in the structure of films, solubility and film permeability decreased compared to pure chitosan film. By adding of two essential oils with a ratio of 50:50, tensile strength (UTS) and strain to break (STB) of films were increased, while organic nanofibers led to an increase in UTS and a significant reduction in STB of nanocomposites. It was also found that active films containing different ratios of essential oil had remarkable antioxidant activity and high antimicrobial activity against *E.coli* and *B.cereus* bacteria, which by adding CNF and LCNF these features were reduced due to the role of controlling the release of essential oil compounds by nanofibers. With the numerical optimization of the software, the optimal amount for the essential oils of *C. copticum* and *O. vulgare* oils were 2.29 and 2.71% (5% mix) respectively, in combination with the LCNF nanofibers. The results of oxidative stability of Canola oil showed that nanocomposites containing 5%

5, 2 and 3. Ph.D. Graduate, Assistant Professor and Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

(* Corresponding author E-mail: Jahed65@gmail.com)

essential oil were considerably able to keep the oil freshness during storage at ambient temperature and delay the oxidation of the oil.

Key words: Nanocomposites, *C. copticum*, *O. vulgare*, Canola oil, Lignocellulose nanofiber.



بهینه‌سازی تولید نانوکمپلکس‌های پروتئین آب پنیر - پکتین جهت ریزپوشانی روغن پوست پرتقال براساس پایداری، رنگ و ویسکوزیته

ساناز قاسمی¹ - سید مهدی جعفری^{2*} - مرتضی خمیری³ - الهام اسدپور⁴

تاریخ دریافت: 1395/11/25

تاریخ پذیرش: 1396/05/16

چکیده

روغن پوست پرتقال، طعم‌دهنده پرمصرف صنعتی، در مجاورت هوا، نور، رطوبت و دمای بالا فرار و از نظر شیمیایی ناپایدار می‌باشد. تشکیل نانوکمپلکس‌های بیوپلیمری بین گروه‌های باردار پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها، دسته‌ای از نانوحامل‌ها برای حفاظت و افزایش زیست‌دسترسی ترکیبات غذا- دارو می‌باشند. از این رو در این پژوهش، نانوکمپلکس‌های بیوپلیمری پروتئین آب پنیر - پکتین به‌عنوان حامل روغن پوست پرتقال تولید شد و ویژگی‌های محلول نانوکمپلکس تهیه شده با غلظت‌های اولیه پروتئین آب پنیر (4، 6 و 8%)، پکتین (0/5، 0/75 و 1%) و مقادیر مختلف pH (3، 6 و 9) مورد بررسی قرار گرفت. ویسکوزیته، پایداری و رنگ (شاخص L^*) تیمارهای طراحی شده، به روش سطح پاسخ بررسی شد. نتایج نشان داد پروتئین آب پنیر 4% و پکتین 1% در pH=3 و pH=9 به‌ترتیب کمترین و بیشترین پایداری را دارا بودند. همچنین این غلظت‌ها در pH=3 بیشترین ویسکوزیته و بیشترین L^* را نیز نشان دادند. کمترین ویسکوزیته در پروتئین آب پنیر 6% و پکتین 0/75% در pH=3 به‌دست آمد که به دلیل نامتعادل بودن غلظت‌ها، کمپلکسی تشکیل نشد و جدایی فازها رخ داد. کمترین L^* را نیز پروتئین آب پنیر 4% و پکتین 0/5% در pH=9 داشته است. در نهایت پروتئین آب پنیر 4% و پکتین 1% در pH=3 به دلیل تشکیل کمپلکس قوی و مناسب، به‌عنوان نمونه بهینه انتخاب شد. اندازه ذرات و پتانسیل زتای نمونه بهینه به‌ترتیب 160 nm و -0/53 mV به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: نانوکمپلکس، پروتئین آب پنیر، روغن پوست پرتقال، پکتین

مقدمه

بهبود پایداری شیمیایی ترکیبات معطر و فرار، رهاسازی هوشمند آنها به درون محصول، جلوگیری از برهم‌کنش‌های نامطلوب آن‌ها با ترکیبات غذایی و غیره در صنعت غذا انجام می‌گیرد. در واقع در طی ریزپوشانی ترکیبات غذایی، آنزیمی و یا مواد دیگر (مانند انواع روغن‌های فرار، مواد مولد طعم و رنگ، آنزیم‌ها و...) در اندازه میکرو یا نانو توسط مواد دیواره که می‌توانند انواعی لیپیدها، بیوپلیمرهای پروتئینی و پلی‌ساکاریدی و یا کمپلکس آن‌ها باشند احاطه، و در برابر عوامل خارجی محافظت می‌شوند (Quintanilla-Carvajal et al., 2010).

نانوذرات بیوپلیمری یا به تنهایی از طریق تجمع و به هم پیوستن زنجیرهای یک نوع بیوپلیمر (پروتئین یا پلی‌ساکارید) و یا از طریق کنترل اتصال و کمپلکس شدن مولکول‌های پروتئین و پلی‌ساکارید، می‌توانند تولید شوند. نانوذرات پروتئین - پلی‌ساکارید، به علت حفاظت شیمیایی و کلوئیدی بالاتر، نسبت به نانوذرات بیوپلیمری خالص، بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. پروتئین آب پنیر دارای بار منفی در بالای نقطه ایزوالکتریک خود (pI=5) و بار مثبت زیر این pH می‌باشند (خوش‌منظر و هکاران، 1391). بنابراین هنگامی که پروتئین

روغن پوست پرتقال از دسته طعم‌دهنده‌های پرمصرف در صنعت غذا می‌باشد که از پوست این میوه تهیه می‌شود و بخش قابل توجه این ماده (بیش از 90%)، از د-لیمونن، تشکیل شده است (Pino et al., 1992). روغن پوست پرتقال، مولد طعم و بو، در حضور هوا، نور، رطوبت و دمای بالا فرار و از نظر شیمیایی ناپایدار می‌باشد (Madene et al., 2006). از این رو امروزه روش‌های جلوگیری از تجزیه و از بین رفتن این ترکیبات در حین فرآوری و نگهداری مواد غذایی به‌طور چشمگیری مورد توجه محققان قرار گرفته است (Jun-xia et al., 2011). ریزپوشانی یکی از مهمترین فرآیندهایی است که به‌منظور

1 و 2 - به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران.

3 - استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی بهاران، گرگان، ایران.

(*) نویسنده مسئول: Email: smjafari@gau.ac.ir.

DOI: 10.22067/food.v1396i0.62600

بر پایه نانوذرات کمپلکس بیوپلیمرهای پروتئین آب پنیر و پکتین کم استر و بررسی فاکتورهای مختلف شامل اثر غلظت‌های مختلف پکتین (0/5، 0/75 و 1%)، کنسانتره پروتئین آب پنیر (4، 6 و 8%) و pH (3، 6 و 9) بر تشکیل کمپلکس، به‌منظور یافتن شرایط بهینه برای تولید آن در مقیاس نانو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

روغن پوست پرتقال از شرکت کنسانتره مرکبات رامسر خریداری شد و با انجام GC، میزان د-لیمون آن 96% تعیین شد. کنسانتره پروتئین آب پنیر¹ (پروتئین 80%، خاکستر 3/5%، رطوبت 6% و دانسیته توده‌ای 0/45 g/cm³) و مالتودکسترین (DE=20-16) به‌ترتیب از شرکت‌های آرلا (دانمارک) و شرکت کینه‌وانگ‌دائو (چین) تهیه شدند. پکتین با درجه متوکسیل پایین، سورفاکتانت توئین 80 از شرکت سیگما تهیه گردید.

تهیه محلول‌های بیوپلیمری

ابتدا با حل کردن 4، 6 و 8 گرم پودر WPC در آب دیونیزه، به‌ترتیب محلول پروتئینی باغلظت اولیه 4 و 6 و 8% تهیه شدند. برای تهیه محلول‌های پکتینی با غلظت اولیه 0/5، 0/75 و 1% نیز، در ابتدا آب دیونیزه توسط هیتر تا 70 درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و سپس پودر پکتین در مقادیر تعیین شده، همراه با هم‌زدن مداوم، به آب افزوده شد. سپس برای افزایش ماده خشک محلول‌ها، از مالتودکسترین استفاده شد. به همین منظور با حل کردن 50 گرم مالتودکسترین در آب دیونیزه، محلول مالتودکسترین با غلظت اولیه 50 w/w% تهیه شد. محلول‌ها برای 30 دقیقه بر روی همزن مغناطیسی (IKA, Germany) با دور 1000 rpm هم‌زده شدند و برای جذب کامل آب، به مدت یک شب محلول پروتئینی در یخچال و محلول پکتین در دمای اتاق نگهداری شدند (Assadpour et al., 2016).

تهیه محلول نانوکمپلکس پروتئین آب پنیر- پکتین حاوی

روغن پوست پرتقال

محلول‌های پکتین (0/5، 0/75 و 1% وزنی)، WPC (4، 6 و 8% وزنی) و مالتودکسترین (غلظت ثابت 50% وزنی) تهیه شدند و با حجم‌های یکسان با یکدیگر مخلوط گردید و روی همزن مغناطیسی به مدت 30 دقیقه هم‌زده شد. سپس به مقدار 10% از ماده جامد، توئین 80 به محلول تهیه شده اضافه گردید و تا حل شدن کامل توئین، هم‌زده شد. محلول آبی حاصل با هم‌زنایزر اولتراسونیک

و پلی‌ساکارید، در یک محیط مایع با هم مخلوط می‌شوند دو وضعیت مختلف می‌تواند بین دو بیوپلیمر رخ دهد: 1) غلبه برهم‌کنش‌های جذبی و در نتیجه تشکیل کمپلکس‌های محلول و نامحلول و 2) غلبه بر هم‌کنش‌های دفعی و در نتیجه جدا شدن دو بیوپلیمر از یکدیگر و قرار گرفتن به‌صورت مجزا. بسته به بار الکتریکی موجود بر روی هر دو بیوپلیمر و همچنین فاکتورهای موثر بر آنها مثل pH و قدرت یونی یکی از این دو رخ خواهد داد. برهم‌کنش‌های جذبی، بیشتر از طریق ایجاد پیوندهای الکترواستاتیک بین بارهای مخالف بیوپلیمرها صورت می‌گیرد و بین پروتئین‌های با بار مثبت در زیر نقطه ایزوالکتریک ($pH < pI$) و پلی‌ساکاریدهای آنیونی (حاوی گروه‌های کربوکسیل، فسفات و سولفات) در pH بالای pKa ، و یا پروتئین با بار منفی ($pH > pI$) و پلی‌ساکاریدهای کاتیونی (مانند کیتوزان) رخ می‌دهد (Matalanis et al., 2011).

پکتین، هتروپلی‌ساکاریدی آنیونی است که در دیواره سلول گیاهان یافت می‌شود و زنجیر اصلی آن از واحدهای اسید گالاکتورونیک با اتصال آلفا-دی (1 به 4) تشکیل شده است و به‌طور نسبی با متانول استری گردیده است. پروتئین‌های آب پنیر، محصولی با رنگ سفید تا کرم روشن و با طعم طبیعی است که با خشک کردن و حذف ترکیبات غیرپروتئینی از آب پنیر پاستوریزه به‌دست می‌آید. پروتئین آب پنیر ترکیباتی کروی شکل با توزیع نسبتاً یکنواخت از زنجیره قطبی (آبگریز) و غیر قطبی (خشکی) و اسیدهای آمینه باردار و بدون بار می‌باشند (Wagoner and Foegeding, 2017).

در سال‌های اخیر، مطالعات گسترده‌ای در تولید و به‌کارگیری نانوکمپلکس پروتئین‌های مختلف با پلی‌ساکاریدهای انجام شده است مانند پکتین چغندر- ایزوله پروتئین آب پنیر (Arroyo-Maya and McClements, 2015)، کربوکی متیل کیتوزان- پروتئین سویا (Teng et al., 2013)، پروتئین آب پنیر- پکتین (Mohammadi et al., 2016)، ایزوله پروتئین آب پنیر- صمغ عربی (Bosnea et al., 2014) و ایزوله پروتئین آب پنیر- پکتین درجه متوکسیل بالا (Wagoner and Foegeding, 2017). Anal و همکاران (2011) به تهیه و ارزیابی نانوکمپلکس کیتوزان- کازئینات پرداختند و نشان دادند که این کمپلکس در محدوده pH 4/8 تا 6 بسیار پایدار بوده است و دارای ابعاد بین 250 تا 350 نانومتر می‌باشد، ولی در بالای pH=6 ذرات در ابعاد بزرگ تشکیل می‌شود که منجر به جدا شدن فازها می‌گردد. این نانوکمپلکس‌ها می‌توانند به‌عنوان حامل اسیدهای چرب ضروری و مواد مغذی- دارویی به‌کاربرده شوند. در تحقیقی دیگر، Zimet و همکاران (2011) نتایج نشان دادند که ریزپوشانی اسیددکوزاهگزانوئیک به‌وسیله کمپلکس بتالاکتوگلوبولین- پکتین، موجب کاهش افت آن از 80 درصد به 5-10 درصد، در طی 100 ساعت نگهداری در 40 درجه سانتی‌گراد، گردید.

هدف از این پژوهش، تولید نانوکپسول‌های روغن پوست پرتقال

¹ Whey Protein Concentrate (WPC)

سایزر (Malvern, UK) استفاده شد. برای این منظور نمونه‌ها با آب مقطر (pH آب مقطر مطابق با pH نمونه تنظیم شده بود) رقیق شدند و در دمای 25°C پتانسیل زتا اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایشات (جدول 1) به روش سطح پاسخ با طرح آزمایشی مرکب مرکزی² و نرم‌افزار Design Expert (version 7) طراحی و آنالیز شدند. اثر سه متغیر مستقل غلظت پروتئین آب پنیر (4، 6، 8٪ وزنی)، غلظت پکتین (0/5، 1/0، 1٪ وزنی)، pH (3، 6، 9) بر سه متغیر پاسخ ویسکوزیته، پایداری و رنگ بررسی شد. لازم به ذکر است که مالتودکسترین نقش پرکننده داشته است و در غلظت ثابت 50٪ وزنی استفاده شده است. برای تایید نقطه بهینه مقایسه نتایج با آزمون T-test انجام شد.

جدول 1- تیمارهای طراحی شده به روش سطح پاسخ

شماره تیمار	WPC (%)	پکتین (%)	pH
1	6	0/75	6
2	6	0/75	6
3	6	0/75	6
4	4	0/5	3
5	8	0/5	3
6	4	1	3
7	8	1	3
8	4	0/5	9
9	8	0/5	9
10	4	1	9
11	8	1	9
12	4	0/75	6
13	8	0/75	6
14	6	0/5	6
15	6	1	6
16	6	0/75	3
17	6	0/75	9

نتایج و بحث

ویسکوزیته محلول‌های نانوکمپلکس حاوی روغن پوست پرتقال

یکی از پارامترهای مهم در تهیه و تشکیل کمپلکس، ویسکوزیته می‌باشد. همانطور که در شکل 1 مشاهده می‌شود، کمترین مقادیر ویسکوزیته مربوط به pH اسیدی می‌باشند به استثنای تیمار 6

(20kHz، با قطر پراب 12 mm، شرکت فناوری مافوق صوت، ایران)، به مدت 10 دقیقه در دمای 25 درجه سانتی‌گراد (با قرار گرفتن ظرف نمونه درون ظرفی حاوی آب و یخ، دما کنترل شد) و توان 350 وات هم‌وزن شد و در حین تیمار فراصوت، روغن پوست پرتقال به میزان 20٪ از ماده جامد کل موجود در محلول تهیه شده، طی 10 مرحله توسط سرنگ اضافه گردید. در این مرحله برای تشکیل کمپلکس، تیتراسیون با HCl و سود 1 N انجام شد (Jafari *et al.*, 2007; Lutz *et al.*, 2009b).

اندازه‌گیری ویسکوزیته

به‌منظور اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌ها، بلافاصله پس از تولید، 16 ml از هر نمونه برداشته شد و با استفاده از دستگاه ویسکومتر بروکفیلد (LVDV & RVDV Pro II, Brook-field Engineering Laboratories, USA) و اسپندل S00 ویسکوزیته در دمای 25 درجه سانتی‌گراد و نرخ برشی 18/3 1/s اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری رنگ

برای ارزیابی تاثیر غلظت‌های مختلف ترکیبات و شرایط فرمولاسیون بر رنگ محلول‌های نانوکمپلکس تهیه شده، شاخص‌های تعیین رنگ ($L^*a^*b^*$) با روش پردازش تصویر و نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد (Hosseini *et al.*, 2015).

اندازه‌گیری پایداری

برای انجام آزمون پایداری از روش تسریع یافته به کمک سانتریفوژ انجام شد. درصد پایداری تیمارها به‌وسیله سانتریفوژ (سیگما، 3K30) در دور 20000g و در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 ساعت و مطابق با معادله 1 محاسبه شد (Zimet and Livney, 2009).

$$\text{درصد پایداری} = \frac{\text{ارتفاع فاز امولسیون باقی مانده (cm)}}{\text{ارتفاع فاز امولسیون اولیه (cm)}} \times 100 \quad (1)$$

تعیین اندازه ذرات

اندازه ذرات نمونه‌های تهیه شده، به روش تفرق نور پویا¹، توسط دستگاه زتاسایزر (Malvern, UK) اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها با آب مقطر (pH آب مقطر مطابق با pH نمونه تنظیم شده بود) رقیق شدند و متوسط اندازه ذرات براساس میانگین قطر حجمی تعیین شد.

اندازه‌گیری پتانسیل زتا

به‌منظور تعیین پتانسیل زتای نمونه‌های تهیه شده، از دستگاه زتا

² Central Composite Design (CCD)

¹ Dynamic light scattering (DLS)

(WPC=4% ، پکتین=1% و pH=3) که بیشترین ویسکوزیته را داشته است زیرا کمپلکس WPC- پکتین به مقدار بیشتری رسوب کرد و جدا شد در نتیجه می توان گفت بیشترین جذب و در نتیجه بالاترین میزان واکنش الکترواستاتیک بین این دو بیوپلیمر وجود داشته است و کمپلکس توده های نامحلول¹ قوی بین آن ها تشکیل شد. کمترین مقدار ویسکوزیته نیز مربوط به تیمار 16 (WPC=6% ، پکتین=0/75% و pH=3) بوده است به این دلیل که غلظت های WPC و پکتین و نسبت بین آن ها در تعادل نبوده و واکنش بین آن ها مناسب نبوده است، بنابراین کمپلکس تشکیل نشده است و کاهش pH موجب رسوب بیشتر WPC و جدا شدن فازها شده است و به همین دلیل ویسکوزیته آن کاهش یافته است.

در شکل 1-الف، اثر متقابل WPC و پکتین قابل مشاهده است. اگر pH ثابت فرض شود، با افزایش غلظت WPC و غلظت پکتین، ویسکوزیته نیز افزایش می یابد. با افزایش WPC، هرچقدر که پکتین افزایش یابد نسبت بین این دو بیوپلیمر متعادل می شود و کمپلکس بیشتر و قوی تری تشکیل می شود و ویسکوزیته نیز افزایش می یابد. در مقدار بالای WPC، احتمالاً کاهش مقدار پکتین، باعث تشکیل کمپلکس ناقص وضعیفی با پروتئین شده و بخش اعظم پروتئین بدون تشکیل کمپلکس و به صورت پروتئین تک لایه باقی می ماند. همچنین ایجاد پل پکتینی بین دو یا چند مولکول WPC، توده های شدن، تشکیل رسوب و کاهش ویسکوزیته را به دنبال دارد.

در شکل 1-ب، نتایج اثر متقابل WPC و pH، نشان می دهد که با ثابت در نظر گرفتن غلظت پکتین، با کاهش WPC و افزایش pH، ویسکوزیته افزایش می یابد. با فرض ثابت بودن مقدار پکتین در محلول، در مقادیر بالای pH، هرچه مقدار WPC کمتر شود نسبت این دو ماده مناسب تر می شود و با یکدیگر کمپلکس پایدارتری تشکیل می دهند و بنابراین با محبوس کردن هرچه بیشتر آب در شبکه کمپلکس موجب می شود سیالیت محلول کم شود و ضمن اینکه به دلیل تشکیل کمپلکس مناسب، نیروی برشی بیشتری برای جاری شدن آن نیاز است بنابراین ویسکوزیته افزایش می یابد. از طرفی نیز اگر مقدار WPC بیش از حد تعادل باشد، در pH های بالا مقدار اضافی آن رسوب می کند و موجب کاهش ویسکوزیته می شود.

با توجه به شکل 1-ج، با افزایش پکتین و افزایش pH ویسکوزیته افزایش می یابد. پکتین تاثیر زیادی در افزایش ویسکوزیته داشته است و مشاهده می شود که در نمونه های کمپلکس، محلول های حاوی 1% پکتین، دارای ویسکوزیته بالاتری هستند و با کاهش غلظت پکتین، مقدار ویسکوزیته نمونه کمپلکسی نیز کاهش می یابد. از بین درصدهای مختلف پکتین، نمونه های با پکتین 1% بالاترین ویسکوزیته ها را نشان می دهند. به نظر می رسد که افزایش غلظت

پکتین بیشتر با اثر بر ویسکوزیته فاز پیوسته، بر ویسکوزیته کلی سیستم کلوئیدی مؤثر است. از طرفی افزایش درصد پکتین سبب افزایش تعداد گروه های آبدوست و جذب بیشتر آب می شود بنابراین غلظت 1% پکتین به دلیل داشتن گروه های آبدوست فراوان، به میزان زیادی آب جذب می کند و ویسکوزیته را افزایش می دهد. افزایش مقدار زیاد پکتین در محلول، موجب می شود تا رشته های مولکولی پکتین در مناطقی گیر افتاده و همچنین توسط برهمکنش های بین رشته ای (هیدروژنی و آبگریز) به یکدیگر متصل شوند از نظر حلالیت، در محدوده بین انحلال کامل و رسوب قرار گیرند. این برهمکنش ها در نهایت منجر به افزایش یکپاره ویسکوزیته در محلول مورد نظر می شود. همانطور که می دانیم در دمای ثابت رابطه مستقیم غیر خطی بین غلظت مواد محلول و ویسکوزیته وجود دارد و با افزایش غلظت مواد، ویسکوزیته افزایش می یابد. بررسی های انجام شده توسط Kaya و همکاران (2001)، نیز نشان داد که ویسکوزیته محلول آبی کربوکسی متیل سلولز به شدت تحت تاثیر غلظت آن بود و با افزایش غلظت، افزایش شدیدی در مقدار ویسکوزیته مشاهده شد.

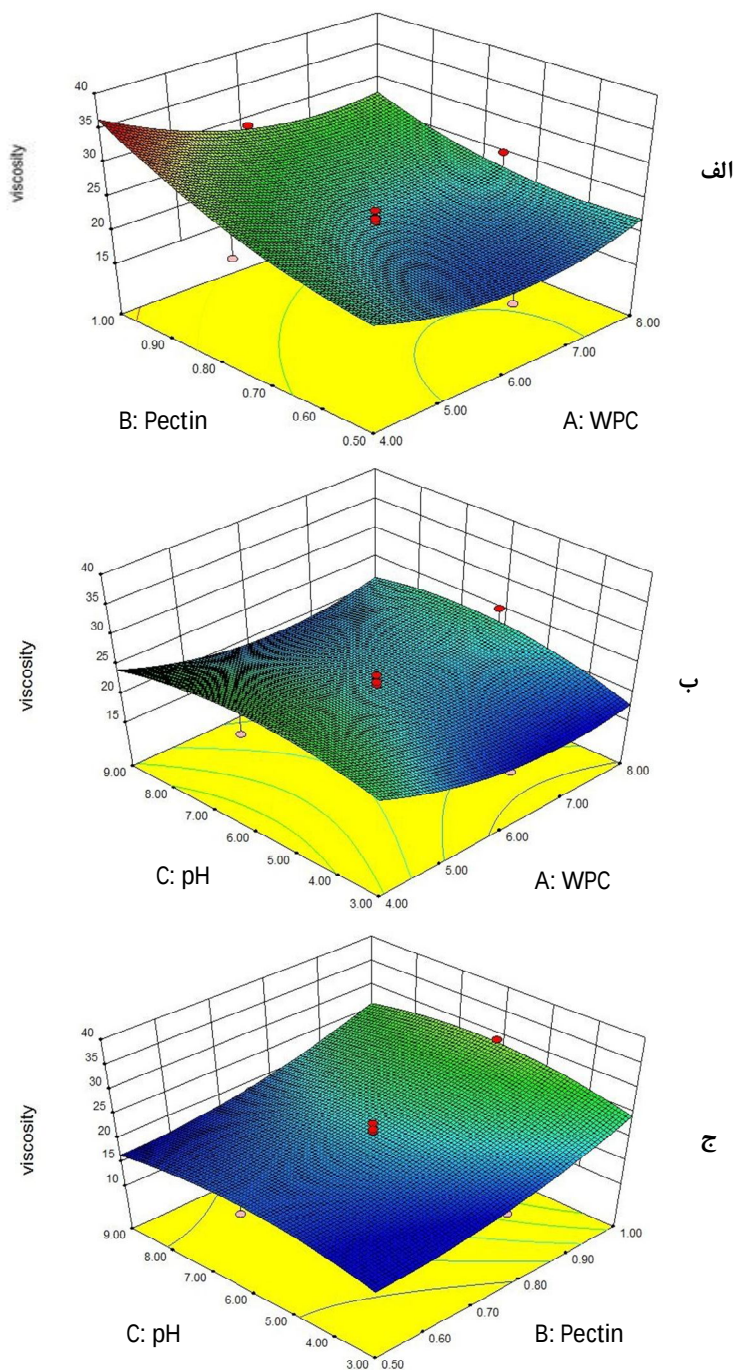
عامل دیگری که باعث افزایش ویسکوزیته می شود pH می باشد. عامل pH بر روی بیوپلیمرهای باردار از جمله پکتین و پروتئین آب پنیر که دارای بار الکتریکی در سطح هستند مؤثر است. همانطور که در شکل 1 مشاهده می شود، با کاهش pH به سمت مقادیر اسیدی، ویسکوزیته کاهش می یابد زیرا از طرفی پکتین به دلیل داشتن گروه کربوکسیل باردار بر سطح خود، در محیط اسیدی بار منفی خود را تا حدودی از دست می دهد و کاهش دافعه الکتروستاتیک ناشی از کاهش بارهای منفی پکتین سبب نزدیک شدن زنجیره های پکتین به یکدیگر و منجر به کاهش ویسکوزیته در محیط اسیدی می شود. در پژوهشی Ye و همکاران (2006) نیز نشان دادند که مقادیر بار منفی صمغ عربی در pH حدود 4 تا 6/4 تقریباً ثابت است و با کاهش بیشتر pH مقادیر منفی آن کاهش یافته، و در نهایت در pH معادل 2 مقدار پتانسیل زتا به صفر رسیده و بار خالص آن خنثی می شود. همچنین با کاهش پتانسیل زتای پکتین، قدرت و امکان تشکیل کمپلکس کاهش می یابد و با تشکیل رسوب، ذرات از فاز آبی جدا می شوند و تحرک ذرات افزایش می یابد و در نتیجه ویسکوزیته کاهش می یابد (Lutz et al., 2009b; Terrisse et al., 1994).

حال اگر در چنین شرایطی میزان WPC و پکتین در تعادل باشند و بتوانند کمپلکس قوی تشکیل دهند، ویسکوزیته به میزان زیادی افزایش می یابد. هرچه pH تا مقادیر حدود 6 افزایش یابد، ویسکوزیته افزایش می یابد و در مقادیر pH حدود 9 کمی کاهش می یابد. اما در pH=9 تیمارهایی که کمپلکس به خوبی تشکیل شده، ویسکوزیته به بیشترین مقدار خود رسیده است زیرا با تشکیل کمپلکس، آب بیشتری درون کمپلکس محبوس می شود و از طرفی دیگر تشکیل کمپلکس قوی

¹ Complex coacervate

دلیل ویسکوزیته افزایش می‌یابد.

موجب می‌شود که مقاومت سیال در مقابل تنش برشی بیشتر می‌شود و برای جاری شدن نیاز به تنش برشی بیشتری می‌باشد به همین



شکل 1- نمودار سه بعدی نشانگر تاثیر غلظت‌های مختلف WPC، پکتین و pH بر ویسکوزیته محلول‌های نانوکمپلکس حاوی روغن پوست پرتقال:
الف) اثر متقابل WPC-پکتین (ب) اثر متقابل WPC-pH (ج) اثر متقابل پکتین-pH

با لیکوپین ریزپوشانی شده پخته شده است رنگ روشن‌تری (L^*) بزرگتر) نسبت به کیک پخته شده با لیکوپین ریزپوشانی نشده دارد. بنابراین هرچه ماده هسته مورد نظر بیشتر ریزپوشانی شود، رنگ نمونه شفاف‌تر و روشن‌تر می‌شود.

در شکل 2-ب، با ثابت در نظر گرفتن pH، با افزایش WPC و پکتین، L^* افزایش می‌یابد. زمانی که WPC افزایش می‌یابد برای تشکیل کمپلکس، پکتین بیشتری نیاز است و با افزایش پکتین و تشکیل کمپلکس مناسب‌تر، روغن پوست پرتقال را بیشتر پوشش می‌دهند و اندیس روشنایی L^* افزایش می‌یابد.

در شکل 2-ج، هرچه پکتین افزایش و pH کاهش یابد L^* افزایش می‌یابد. همانطور که گفته شد، کاهش pH به سمت مقدار 3، موجب روشنایی بیشتر نمونه‌ها می‌شود. همچنین اگر مقدار WPC، ثابت فرض شود، افزایش پکتین و تشکیل هرچه بهتر کمپلکس موجب افزایش L^* می‌شود.

تأثیر غلظت‌های مختلف WPC، پکتین و pH بر پایداری محلول نانوکمپلکس

با توجه به شکل 3، بیشترین پایداری (98/5%) مربوط به تیمار 10 (4=WPC)، پکتین=1% و pH=9 بوده است و کمترین پایداری (83) نیز در تیمار 6 (4=WPC)، پکتین=1% و pH=3 مشاهده شد. افزایش pH سبب می‌شود میزان بار منفی در سطح پروتئین افزایش یابد و در نتیجه میزان نیروی دافعه منفی بین پکتین و پروتئین افزایش یابد. به عبارتی دیگر پتانسیل زتای کمپلکس تشکیل شده با مقدار منفی افزایش می‌یابد و از بهم چسبیدن ذرات کوچک کمپلکس و بزرگ شدن آن‌ها و همچنین رسوب کمپلکس جلوگیری می‌کند و سیستم پایداری ایجاد می‌شود. بنابراین به‌طور کلی پتانسیل زتای بالا و در نتیجه ذرات کوچک‌تر، موجب پایداری بیشتر سیستم می‌شود که pH توانسته است بسیار تأثیرگذار باشد. در پژوهشی لوتس و همکاران (2009)، امولسیون دوگانه تهیه کرد و برای پایداری بیشتر امولسیون، از تشکیل کمپلکس پروتئین آب پنیر و پکتین استفاده کردند. آن‌ها تأثیر pH بر اندازه و پتانسیل زتای ذرات و پایداری آن‌ها را بررسی کردند و نشان دادند که در pH حدود 6 کوچکترین ذرات با پتانسیل زتای بالا، پایدارترین نمونه تشکیل داده‌اند. بزرگترین ذرات نیز در pH حدود 2 به‌دست آمد که ناپایدارترین نمونه تهیه شده بوده است.

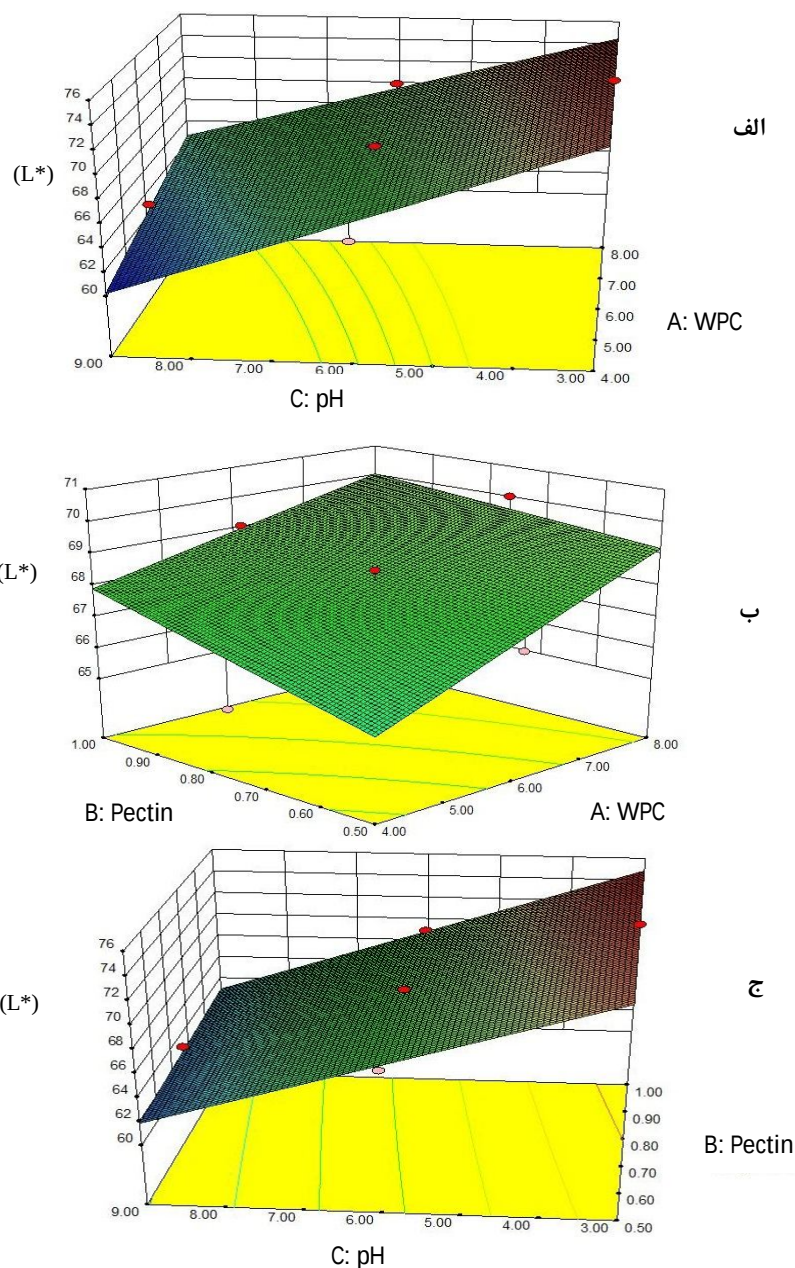
شکل 3-الف، اثر متقابل WPC و پکتین را نشان می‌دهد. تشکیل کمپلکس‌های کوچک با حداکثر پایداری در pH‌های 6 و 9 در صورتی امکان‌پذیر است که نسبت مناسبی از بیوپلیمرها با یکدیگر مخلوط شوند و در تعادل باشند، بنابراین پکتین باید بتواند به‌طور کامل با تمام مقدار WPC موجود، کمپلکس تشکیل دهد.

همانطور که در شکل 1 مشاهده می‌شود، در pH=9 با غلظت‌های WPC و پکتین به ترتیب 4% و 1%، ویسکوزیته مقدار بالایی را نشان می‌دهد که همانطور که گفته شد به دلیل تشکیل کمپلکس مناسب، کاهش حرکت ذرات (به دلیل محبوس شدن آب بیشتر) و عدم وجود رسوب در سیستم می‌باشد. در این شرایط مقدار پتانسیل زتای ذرات بالا می‌باشد و موجب پایداری بیشتر سیستم می‌شود. pH همچنین می‌تواند روی ویژگی‌های آرایش فضایی پکتین اثر گذاشته و سبب ایجاد ساختار قوی‌تر در آن شود. Medina-Torres و همکاران (2000) اثر pH را بر ویسکوزیته ظاهری یک نوع صمغ موسیلاژ بررسی کردند. نتایج نشان داد که با افزایش pH از اسیدی به سمت قلیایی، ویسکوزیته افزایش می‌یابد. آن‌ها بیان نمودند که چنین تغییراتی مربوط به تغییرات آرایش فضایی مولکول‌های این صمغ می‌باشد.

اثر غلظت‌های مختلف WPC، پکتین و pH بر رنگ محلول‌های نانوکمپلکس

برای ارزیابی تأثیر غلظت‌ها و pH بر رنگ نمونه‌ها از شاخص L^* یا روشنایی استفاده شد چرا که تأثیر pH و غلظت WPC را با وضوح بیشتری نشان می‌داد. با توجه به شکل 2، در pH=3 نمونه‌ها بیشترین L^* را دارند زیرا در این pH همانطور که اشاره شد، پکتین دارای بار منفی و WPC دارای بار مثبت می‌باشند، بنابراین یکدیگر را جذب می‌کنند و همزمان با خنثی شدن و رسوب کردن، روغن پوست پرتقال را در داخل خود به دام می‌اندازند و در نتیجه اندیس روشنایی نمونه (L^*) افزایش می‌یابد. بیشترین L^* (75/14) مربوط به تیمار 6 (4=WPC)، پکتین=1% و pH=3 بوده است که در این حالت کمپلکس تشکیل شده قوی‌تر بوده است و توانسته روغن پوست پرتقال بیشتری را به دام اندازد و پوشش دهد و در نتیجه نمونه روشن‌تر دیده می‌شود. کمترین L^* (60) نیز مربوط به تیمار 8 (4=WPC)، پکتین=0/5% و pH=9 بوده است که پایداری بسیار بالایی دارد و هیچگونه رسوبی مشاهده نشده است.

در شکل 2-الف، رنگ نمونه (L^*) به‌عنوان تابعی از غلظت WPC و pH نشان داده شده است. با توجه به شکل مشاهده می‌شود که با افزایش WPC و کاهش pH، L^* افزایش می‌یابد. به دلیل اینکه WPC سفید رنگ می‌باشد، بنابراین هرچه افزایش یابد، روشنایی نمونه نیز بیشتر می‌شود. از طرفی با کاهش pH به سمت مقدار 3، همانطور که گفته شد کمپلکس رسوبی تشکیل می‌شود و ماده‌ی هسته را به درون کمپلکس می‌برد و به‌عبارتی ریزپوشانی می‌کند و موجب افزایش اندیس روشنایی (L^*) می‌شود. در پژوهشی Rocha و همکاران (2012)، لیکوپین را ریزپوشانی کردند و آن را در فرمولاسیون کیک وارد کردند. آن‌ها نشان دادند که رنگ کیک که



شکل 2- نمودار سه بعدی نشانگر تاثیر غلظت‌های مختلف WPC، پکتین و pH بر رنگ (شاخص L^*) محلول‌های نانوکمپلکس حاوی روغن پوست پرتقال: الف) اثر متقابل WPC - pH ب) اثر متقابل WPC - پکتین ج) اثر متقابل پکتین - pH

عدم تشکیل کمپلکس کاملی می‌شود و همچنین با ایجاد پل پکتینی بین دو یا چند مولکول WPC، توده‌ای شدن و در نتیجه رسوب ذرات

برای تولید کمپلکس‌های پایدارتر، در غلظت‌های بالای WPC، مقدار پکتین بیشتری نیاز است زیرا احتمالاً کاهش مقدار پکتین، سبب

رخ می‌دهد. نتایج مشابهی توسط Ron و همکاران (2010) بر نانوکمپلکس بتالاکتوگلوبولین - پکتین حامل ویتامین D به‌دست آمد بدین ترتیب که با کاهش pH از 4/5 به 3/5 در غلظت ثابتی از بتالاکتوگلوبولین (0/05%) مقدار بالاتری از پکتین (0/1%) برای تشکیل کمپلکس و رسیدن به اندازه ذرات کوچکتر، مورد نیاز بود که وابستگی پروتئین به پکتین جهت جلوگیری از لخته شدن، را نشان می‌داد.

در pH=3 نیز اگر مقدار WPC و پکتین در تعادل باشند و کمپلکس قوی تشکیل دهند، پکتین به‌طور کامل WPC را جذب می‌کند و بیشترین رسوب را تشکیل می‌دهند و بنابراین کمترین پایداری را خواهند داشت. به‌طور کلی WPC در غلظت‌های 4 و 8% و پکتین در غلظت 1% در pH=9 پایداری کمپلکس را ایجاد کرده‌اند. همچنین WPC با غلظت 4% و پکتین با غلظت 1% در pH=3 نیز کمترین پایداری و بیشترین رسوبی را تشکیل داده است.

با توجه به شکل 3- ب، که اثر متقابل پکتین و pH را نشان می‌دهد، این دو پارامتر به‌طور همزمان اثر تشدیدکننده‌ای در پایداری دارند. به این صورت که افزایش pH سبب می‌شود که پتانسیل زتای پکتین افزایش یابد و از طرف دیگر افزایش غلظت پکتین نیز پتانسیل زتای کل را افزایش می‌دهد و به عبارتی مقدار بارهای منفی زیاد می‌شود، بنابراین، این دو عامل همزمان سبب می‌شوند تا پتانسیل زتای کل و به دنبال آن پایداری سیستم افزایش یابد (Marozienne and De Kruif, 2000; Pereyra et al., 1997). از طرفی دیگر با افزایش پکتین، ویسکوزیته محلول افزایش می‌یابد و احتمالاً به دلیل کاهش تحرک ذرات در سیستم، پایداری ذرات تشکیل شده افزایش می‌یابد. بنابراین تیمار 10 (WPC=4%، پکتین=1% و pH=9) با ویسکوزیته بالای خود، موجب تشکیل پایداری کمپلکس گردید. در پژوهشی مشابه، لوتس و همکاران (2009)، نشان دادند که ویسکوزیته بالای کمپلکس پروتئین آب پنیر - پکتین تهیه شده در pH حدود 6 موجب کاهش تحرک ذرات گردید و در نتیجه پایداری کمپلکس را تشکیل داد.

عملکرد پکتین، نه تنها به ساختار و انعطاف مولکول‌های پکتین وابسته است، بلکه توزیع و میزان گروه‌های کربوکسیل، متیل و استیل آن تأثیرگذار است. میزان بار و پتانسیل زتای پکتین به درجه استری شدن¹ آن نیز بستگی زیادی دارد، به این صورت که مقدار بار منفی پکتین با DE پایین نسبت به پکتین با DE بالاتر بیشتر است. بنابراین مولکول‌های پروتئین با مولکول‌های پکتین با DE پایین در تماس نزدیک‌تری می‌باشند، بنابراین تشکیل پیوند بین آن‌ها آسان‌تر می‌شود. در این رابطه سالمین و ویس (2014)، نشان دادند که نوع پکتین (DE بالا یا پایین) بر روی تشکیل کمپلکس β

لاکتوگلوبولین - پکتین و پایداری آن اثر دارد. نتایج آن‌ها نشان داد اندازه ذرات کمپلکس پروتئین آب پنیر - پکتین با پکتین نوع با DE پایین، 200 نانومتر و با پکتین نوع با DE بالا، 300 نانومتر به‌دست آمد. بنابراین با افزایش درجه استری شدن پکتین، اندازه ذرات کمپلکسی افزایش یافته و موجب ناپایداری در سیستم شده است. آن‌ها اثر pH را بر کمپلکس تشکیل شده با اندازه‌گیری اندازه ذرات و پتانسیل زتا انجام دادند.

با توجه به شکل 3- ج، که اثر متقابل WPC و pH را نشان می‌دهد، بیشترین اثر را در پایداری، pH دارد و به‌طور کلی با افزایش pH، پایداری سیستم افزایش می‌یابد چرا که دافعه ذرات بیشتر می‌شوند و با افزایش پتانسیل زتای ذرات، سیستم پایداری بیشتری تشکیل می‌گردد. با کاهش pH تا حدود 3، ذرات یکدیگر را جذب می‌کنند و موجب خنثی شدن و رسوب کمپلکس می‌شوند، بنابراین دافعه بین ذرات وجود ندارد تا ذرات پایدار بمانند، از همین رو در این pH ذرات کمترین پایداری را دارند و رسوب نیز تشکیل می‌شود. از طرفی با فرض ثابت بودن غلظت پکتین، در pHهای 6 و 9، با افزایش WPC تا زمانی که با پکتین در تعادل باشد، موجب افزایش پایداری می‌شود اما در صورتیکه WPC از حالت تعادل خارج شود و بیشتر افزایش یابد، پکتین نمی‌تواند با تمام مقدار WPC کمپلکس ایجاد کند، بنابراین موجب تشکیل کمپلکس ناقص می‌شود و مقدار اضافی WPC رسوب می‌کند.

بهینه‌سازی تشکیل محلول نانوکمپلکس پروتئین

آب پنیر - پکتین حاوی روغن پوست پرتقال

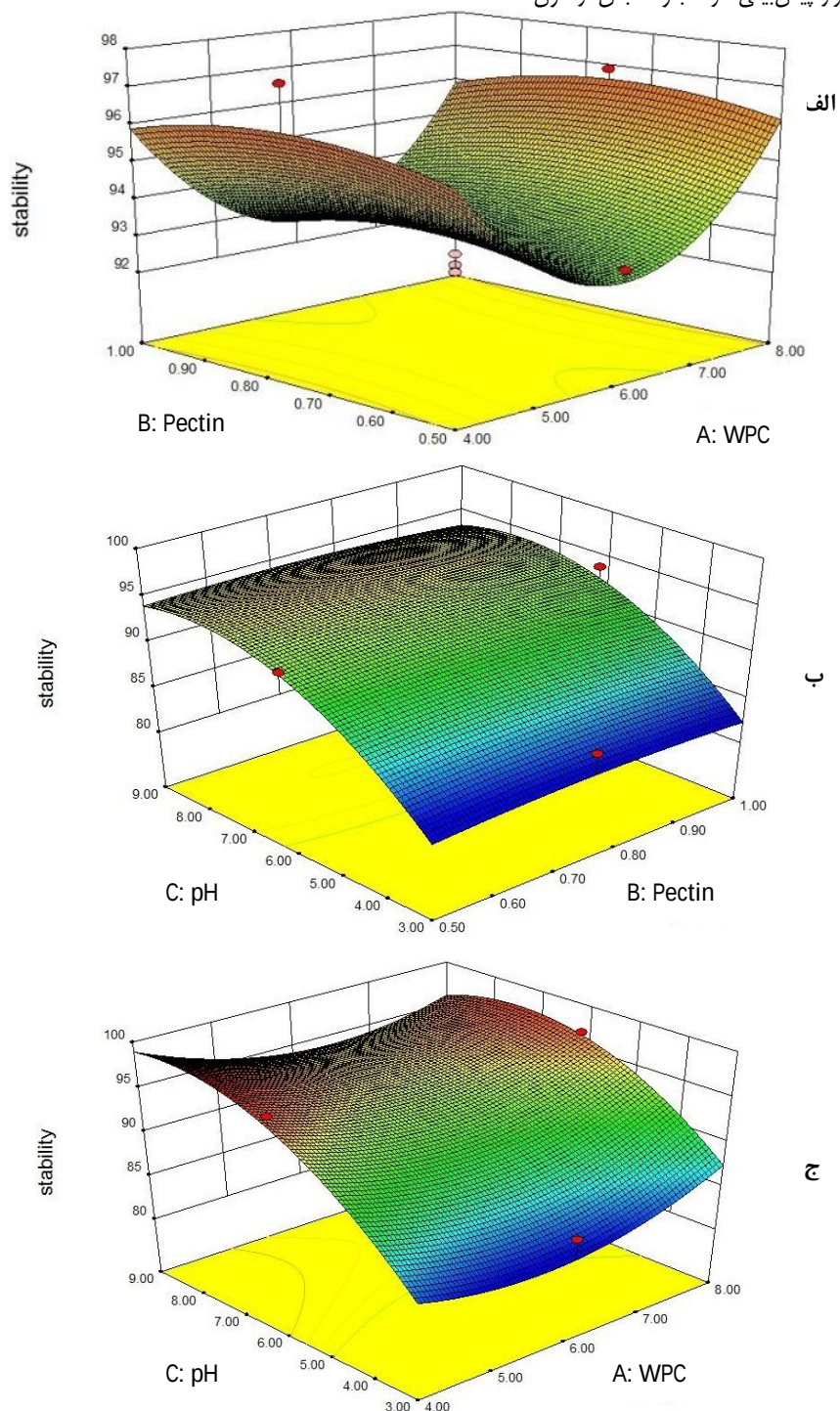
به‌دست آوردن نقطه بهینه غلظت برای WPC، پکتین و همچنین pH برای تشکیل کمپلکس مناسب، با روش سطح پاسخ انجام شد (جدول 2). نتایج نشان داد که غلظت 4% از WPC و غلظت 1% از پکتین در pH=3 بهترین محلول نانوکمپلکس را از نظر رنگ، ویسکوزیته و پایداری تشکیل دادند. به عبارت دیگر می‌توان گفت نسبت 4 به 1 (پروتئین آب پنیر به پکتین) بهترین نسبت برای تشکیل کمپلکس در بین تیمارهای طراحی شده بوده است. در پژوهشی مشابه، تشکیل کمپلکس‌های پکتین (درجه متوکسیل پایین) و پروتئین ایزوله شده آب پنیر حاوی تیامین (ویتامین حساس محلول در آب) در غذاهای اسیدی، مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که برهمکنش‌های الکتروستاتیک برای تشکیل کمپلکس‌های پکتین - پروتئین آب پنیر شدیداً به نسبت اختلاط دو بیوپلیمر وابسته است. طبق نتایج به‌دست آمده، بیشترین تعداد کمپلکس با اختلاط محلول‌های بیوپلیمری با نسبت 2 به 1 (پروتئین به پلی‌ساکارید) گزارش شد (Bédié et al., 2008).

برای تایید نمونه بهینه، یک بار دیگر کمپلکس با این شرایطی که

¹ Degrees of Esterification (DE)

T-test اختلاف معناداری نداشتند.

سیستم پیشنهاد داده بود، تهیه شد و نتایج ویسکوزیته، رنگ و پایداری آن با نتایجی که نرم‌افزار پیش‌بینی کرده بود طبق آزمون



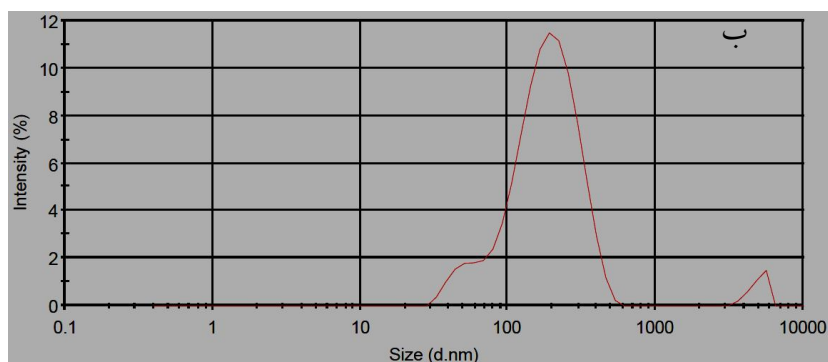
شکل 3- نمودار سه‌بعدی نشانگر تاثیر غلظت‌های مختلف WPC، پکتین و pH بر پایداری محلول‌های نانوکمپلکس حاوی روغن پوست پرتقال:
(الف) اثر متقابل WPC-پکتین (ب) اثر متقابل پکتین-pH (ج) اثر متقابل pH-WPC

جدول 2- شرایط بهینه سازی و فرمول بهینه تهیه محلول نانوکمپلکس حامل روغن پوست پرتقال

Upper	Lower	Upper	Lower			
Importance	Weight	Weight	Limit	Limit	Goal	نام
3	1	1	8	4	In range	پروتئین
3	1	1	1	0/5	In range	پکتین
5	1	1	9	3	In range	pH
3	1	1	35	17	Maximize	ویسکوزیته
3	1	1	98/5	83	Minimize	پایداری
3	1	1	75/14	60	Maximize	رنگ
Desirability		Stability	Color(L*)	Viscosity	pH	Pectin
0/932		84/24	74/67	33/37	3	1
انتخاب شده به عنوان بهینه						4
						1

McClement's (2015)، نشان دادند که با تغییر pH اندازه ذرات تغییر می کند. آن ها عصاره آنتوسیانین را با تشکیل کمپلکس الکترواستاتیک ایزوله پروتئین آب پنیر - پکتین، ریزپوشانی کردند و در pH حدود 4، میانگین اندازه ذرات تشکیل شده، تقریباً 200 نانومتر بدست آمد. اما با افزایش و کاهش pH، میانگین اندازه ذرات افزایش یافت. در پژوهشی دیگر Jones و همکاران (2010)، نشان دادند که در محلول های کاراگینان - بتالاکتوگلوبولین، کاهش اندازه ذرات با کاهش pH از 7 تا 4/7 مشاهده می شود ولی در محلول های پکتین - بتالاکتوگلوبولین مشاهده نمی شود و همچنین به طور کلی سیستم کاراگینان - بتالاکتوگلوبولین دارای اندازه ذرات بزرگتر در تمام pH ها نسبت به سیستم پکتین - بتالاکتوگلوبولین دارد، به این صورت که در pH حدود 4/75 اندازه ذرات سیستم پکتین - بتالاکتوگلوبولین حدود 200 تا 300 نانومتر و اندازه ذرات سیستم کاراگینان - بتالاکتوگلوبولین حدود 700 نانومتر تعیین شد.

تعیین اندازه ذرات و پتانسیل زتای نمونه بهینه
براساس نتایج آنالیز اندازه ذرات مطابق شکل 4، میانگین اندازه ذرات 160nm تعیین شد و همانطور که در شکل 4 مشاهده می شود، بیشتر ذرات در محدوده کمتر از 100 nm قرار دارند و مقدار کمی از ذرات نیز در محدوده بیشتر از 1 میکرون می باشند که می تواند ناشی از بهم چسبیدن و تشکیل شبکه توسط برخی از ذرات باشد.
اندازه ذرات و توزیع آنها، نقش مهمی در ویژگی های فیزیکی سیستم های کلوئیدی مانند پایداری، کدورت و ویژگی های رئولوژیکی دارد. کاهش اندازه ذرات موجب افزایش نسبت سطح به حجم ذرات شده و بدین طریق بر ویژگی های فیزیکی، زیست دسترسی و ارگانولپتیکی سیستم تاثیر می گذارد، بنابراین سیستم های حاوی ذرات در مقیاس نانو، دارای ویژگی های متفاوتی نسبت به سیستم ها در مقیاس میکرو می باشند.
اندازه ذرات کمپلکس های تشکیل شده در pH های مختلف، متفاوت است. به طور مشابه در پژوهشی Arroyo-Maya و



شکل 4- نتیجه اندازه ذرات به روش DLS برای نمونه بهینه (WPC با غلظت 4% و پکتین با غلظت 1% در pH=3) برحسب Intensity

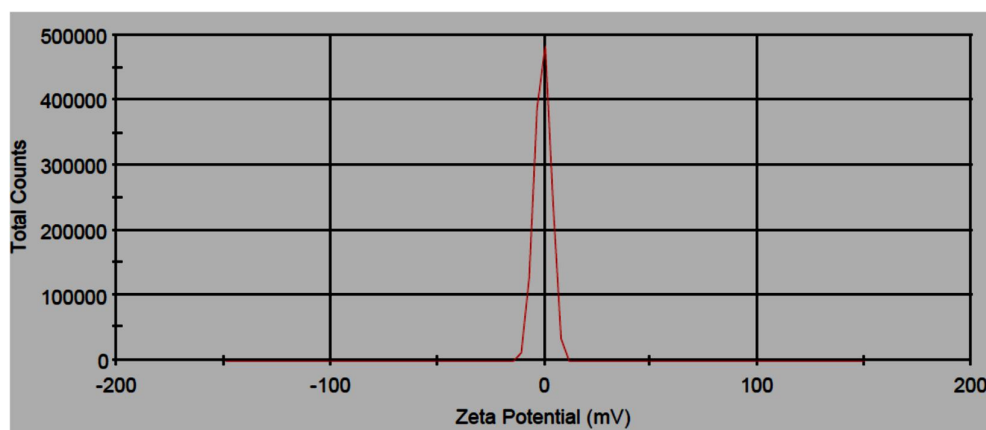
محلول برابر با 0/53- بوده است و نزدیک به صفر می باشد. این به معنای خنثی شدن بارهای سطحی WPC توسط بارهای سطحی

نتایج پتانسیل زتای نمونه بهینه با توجه به شکل 5 که برهمکنش WPC و پکتین در pH=3 را نشان می دهد، مقدار پتانسیل زتای

عوامل مختلفی از جمله قدرت یونی، pH، نوع و غلظت ماکرومولکول‌های پلی‌ساکاریدی و پروتئینی مورد استفاده نسبت بین آنها و غیره بر روی میزان بارسطحی، تحرک الکتروفوریتیک و پتانسیل زتای کمپلکس حاصل مؤثر است. تحقیقات Peinado و همکاران (2010) نیز اثر pH را بر پتانسیل کمپلکس تشکیل شده بیان کرد. نتایج آن‌ها بر روی تولید کمپلکس لاکتوفرین با پلی‌ساکاریدهای آنیونی نشان داد که با کاهش pH از 11 به 2/5 مقادیر پتانسیل زتای کاراگینان به دلیل داشتن قدرت یونی بالا ثابت باقی می‌ماند اما در مورد پکتین و آلژینات، مقادیر پتانسیل زتا از pH معادل 4 به پایین، کاهش می‌یابد و تقریباً به صفر می‌رسد.

پکتین می‌باشد که در این pH یکدیگر را جذب کرده‌اند و سبب تشکیل کمپلکس رسوبی قوی شده است.

در یک سیستم کلئیدی، اختلاف پتانسیل بین لایه یونی غیرمتحرک و لایه متحرک در اتمسفر یونی اطراف ذرات باردار، پتانسیل زتا نامیده می‌شود. پتانسیل زتا بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطح ذرات است زیرا نشان‌دهنده میزان تجمع بار در لایه غیرمتحرک و شدت جذب یون‌های سطح ذره است و بنابراین بار ذرات اغلب بر حسب پتانسیل زتا گزارش می‌شود. بالا بودن پتانسیل زتای ذرات کلئیدی موجب بالا رفتن نیروی دافعه الکترواستاتیک و در نتیجه افزایش پایداری فیزیکی سیستم می‌شود.



شکل 5- نتیجه پتانسیل زتای نمونه بهینه (WPC با غلظت 4% و پکتین با غلظت 1% در pH=3)

تحت تأثیر غلظت پکتین می‌باشد بنابراین با افزایش پکتین ویسکوزیته افزایش یافت. شاخص روشنایی (L^*) نمونه‌ها نیز بیشتر تحت تأثیر pH بوده است و با کاهش pH به سمت مقادیر اسیدی، به دلیل تشکیل کمپلکس رسوبی، L^* نمونه‌ها نیز افزایش یافت. بنابراین غلظت WPC = 4%، پکتین = 1% در pH حدود 9 بالاترین پایداری و کمترین L^* ، در pH برابر با 3 نیز کمترین پایداری، بیشترین L^* و بیشترین ویسکوزیته را داشته است. در این پژوهش نسبت بهینه بین پروتئین آب پنیر و پکتین برای تشکیل کمپلکس 4 به 1 به دست آمد که اندازه ذره برای آن حدود 160nm و پتانسیل زتای -0/53mV تعیین شد.

نتیجه‌گیری

اکثر pH و پتانسیل زتا نقش کلیدی در تشکیل و پایداری کمپلکس پروتئین آب پنیر- پکتین دارد زیرا این عامل، درجه یونی شدن گروه‌های اصلی روی پلی‌ساکارید و پروتئین را تحت تأثیر قرار می‌دهد (مانند گروه‌های آمینو و کربوکسیلی). نسبت دو بیوپلیمر (پروتئین آب پنیر و پکتین) نیز نقش مهمی در تشکیل کمپلکس‌های رسوبی و یا پایدار دارد. اندازه‌گیری پایداری نمونه‌ها، نشان داد که پکتین با افزایش پتانسیل منفی در اطراف ذرات پروتئین آب پنیر، نقش مهمی را می‌تواند در پایداری آن‌ها ایفا کند و همچنین pH اثر زیادی در پایداری داشته است و نمونه‌ها در pH=9 بیشترین پایداری را داشته‌اند. در غلظت‌های مورد استفاده بیوپلیمرها، ویسکوزیته به شدت

منابع

خوش‌منظر، م.، قنبرزاده، ب.، همیشه کار، ح.، صوتی خیابانی، م.، رضایی مکرّم، ر.، 1391، بررسی عوامل مؤثر بر اندازه ذرات، پتانسیل زتا و ویژگی‌های رئولوژیک پایا در سامانه کلئیدی حاوی نانو ذرات کاپاکاراگینان-کازئینات سدیم، مجله پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، 4(1)، 255-272.

- Anal, A.K., Tobiassen, A., Flanagan, J., Singh, H., 2008. Preparation and characterization of nanoparticles formed by chitosan-caseinate interactions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 64, 104-110.
- Arroyo-Maya, I.J., McClements, D.J., 2015. Biopolymer nanoparticles as potential delivery systems for anthocyanins: *Fabrication and properties*. *Food Research International* 69, 1-8.
- Assadpour, E., Maghsoudlou, Y., Jafari, S.-M., Ghorbani, M., Aalami, M., 2016. Optimization of folic acid nano-emulsification and encapsulation by maltodextrin-whey protein double emulsions. *International journal of biological macromolecules* 86, 197-207.
- Bédié, G.K., Turgeon, S.L., Makhoulf, J., 2008. Formation of native whey protein isolate-low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. *Food Hydrocolloids* 22, 836-844.
- Bosnea, L.A., Moschakis, T., Biliaderis, C.G., 2014. Complex coacervation as a novel microencapsulation technique to improve viability of probiotics under different stresses. *Food and bioprocess technology* 7, 2767-2781.
- Harnsilawat, T., Pongsawatmanit, R., McClements, D.J., 2006. Stabilization of model beverage cloud emulsions using protein-polysaccharide electrostatic complexes formed at the oil-water interface. *Journal of agricultural and food chemistry* 54, 5540-5547.
- Hosseini, A., Jafari, S.M., Mirzaei, H., Asghari, A., Akhavan, S., 2015. Application of image processing to assess emulsion stability and emulsification properties of Arabic gum. *Carbohydrate Polymers* 126, 1-8.
- Jafari, S.M., He, Y., Bhandari, B., 2007. Encapsulation of nanoparticles of d-limonene by spray drying: role of emulsifiers and emulsifying techniques. *Drying Technology* 25, 1069-1079.
- Jones, O., Decker, E.A., McClements, D.J., 2010. Thermal analysis of β -lactoglobulin complexes with pectins or carrageenan for production of stable biopolymer particles. *Food Hydrocolloids* 24, 239-248.
- Jun-xia, X., Hai-yan, Y., Jian, Y., 2011. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry* 125, 1267-1272.
- Kaya, S., Tekin, A.R., 2001. The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice-cream mix. *Journal of Food Engineering* 47, 59-62.
- Lutz, R., Aserin, A., Wicker, L., Garti, N., 2009a. Double emulsions stabilized by a charged complex of modified pectin and whey protein isolate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 72, 121-127.
- Lutz, R., Aserin, A., Wicker, L., Garti, N., 2009b. Release of electrolytes from W/O/W double emulsions stabilized by a soluble complex of modified pectin and whey protein isolate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 74, 178-185.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S., 2006. Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science & Technology* 41, 1-21.
- Marozienne, A., De Kruij, C., 2000. Interaction of pectin and casein micelles. *Food Hydrocolloids* 14, 391-394.
- Matalanis, A., Jones, O.G., McClements, D.J., 2011. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food Hydrocolloids* 25, 1865-1880.
- Medina-Torres, L., Brito-De La Fuente, E., Torrestiana-Sanchez, B., Kathain, R., 2000. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). *Food hydrocolloids* 14, 417-424.
- Mohammadi, A., Jafari, S.M., Assadpour, E., Efsanjani, A.F., 2016. Nano-encapsulation of olive leaf phenolic compounds through WPC-pectin complexes and evaluating their release rate. *International journal of biological macromolecules* 82, 816-822.
- Peinado, I., Lesmes, U., Andrés, A., McClements, J.D., 2010. Fabrication and morphological characterization of biopolymer particles formed by electrostatic complexation of heat treated lactoferrin and anionic polysaccharides. *Langmuir* 26, 9827-9834.
- Pereyra, R., Schmidt, K.A., Wicker, L., 1997. Interaction and stabilization of acidified casein dispersions with low and high methoxyl pectins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 3448-3451.
- Pino, J., Sanchez, M., Sanchez, R., Roncal, E., 1992. Chemical composition of orange oil concentrates. *Food/Nahrung* 36, 539-542.
- Quintanilla-Carvajal, M., Camacho-Díaz, B., Meraz-Torres, L., Chanona-Pérez, J., Alamilla-Beltrán, L., Jimenez-Aparicio, A., Gutiérrez-López, G., 2010. Nanoencapsulation: A New Trend in Food Engineering Processing. *Food Engineering Reviews* 2, 39-50.
- Rocha, G.A., Fávaro-Trindade, C.S., Grosso, C.R.F., 2012. Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioprocess Technology* 90, 37-42.
- Ron, N., Zimet, P., Bargarum, J., Livney, Y., 2010. Beta-lactoglobulin-polysaccharide complexes as nanovehicles for hydrophobic nutraceuticals in non-fat foods and clear beverages. *International Dairy Journal* 20, 686-693.
- Salminen, H., Weiss, J., 2014. Effect of pectin type on association and pH stability of whey protein-pectin complexes. *Food biophysics* 9, 29-38.
- Terrisse, I., Seiller, M., Grossiord, J., Magnet, A., Le Hen-Ferrenbach, C., 1994. Application of rheological analysis to W/O/W multiple emulsions: effect of the incorporation of a coemulsifier. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 91, 121-128.
- Teng, Z., Luo, Y., Wang, Q., 2013. Carboxymethyl chitosan-soy protein complex nanoparticles for the encapsulation

- and controlled release of vitamin D 3. *Food chemistry* 141, 524-532.
- Wagoner, T.B., Foegeding, E.A., 2017. Whey protein-pectin soluble complexes for beverage applications. *Food Hydrocolloids* 63, 130-138.
- Ye, A., Flanagan, J., Singh, H., 2006. Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum arabic. *Biopolymers* 82, 121-133.
- Zimet, P., Livney, Y.D., 2009. Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for ω -3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocolloids* 23, 1120-1126.
- Zimet, P., Rosenberg, D., Livney, Y.D., 2011. Re-assembled casein micelles and casein nanoparticles as nano-vehicles for ω -3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocolloids* 25, 1270-1276.



Optimization of whey protein-pectin nanocomplex preparation for encapsulation of orange peel oil based on the stability, color, and viscosity

S. Ghasemi¹, S. M. Jafari^{2*}, M. Khomeiri³, E. Assadpour⁴

Received: 2017.02.13

Accepted: 2017.08.07

Introduction: Orange peel oil is one of the important flavors, which is used extensively in the food industries. D-limonene is a considerable part of this substance (more than 90%). It is volatile in the presence of light, air, moisture and high temperatures and chemically, it is an unstable compound. So nowadays, the researchers are interested to apply some techniques for protection of this volatile compound from decomposition and degradation during processing and shelf life. Encapsulation is one of the most important technologies, which is applied in the food industry in order to improve chemical stability of food bioactive ingredients.

Biopolymeric nanoparticles can be produced by clustering and chaining of single biopolymers (protein or polysaccharide), or by controlling the complexing of protein and polysaccharide molecules. Polysaccharide-protein nanoparticles are taken more into consideration than pure single biopolymer nanoparticles, due to the synergistic combination between the functional groups of various biopolymers and their higher chemical and colloidal stability. When the proteins and polysaccharides are mixed together in a liquid medium, two types of complexes can be formed: 1) overcoming the absorbent interactions and, as a result, the formation of soluble and insoluble complexes (2) overcoming repulsive interactions and, as a result, separating the two biopolymers from each other and arranging separately depending on the electrical charges on both of the biopolymers, as well as factors affecting them, such as pH and ionic strength.

The aim of this study was to produce orange peel oil nanocapsules based on whey protein- low methoxyl pectin nanoparticles and investigation of various factors including the effects of pectin concentrations (0.5, 0.75 and 1%), whey protein concentrations (4, 6 and 8%) and pH (3, 6 and 9) on the formation of complexes, in order to find optimal conditions for its production at nanoscale.

Materials and methods: LMP powder (0.5, 0.75, 1 g) was dissolved in deionized water (70°C) to prepare 100 ml solutions. At the same time, different aqueous solutions of WPC (4, 6 and 8%) were prepared. 50g maltodextrin (at constant ratio) was dissolved in deionized water to prepare 100 ml solutions.

The prepared WPC, LMP, and maltodextrin solutions were mixed together with the same volume. Then, Tween 80 at a ratio of 10% of the total solids was added into the solution and mixed to solve completely. Finally during homogenization of the prepared aqueous solution by an ultrasonic homogenizer (Iranian Ultrasonic Technology Company, 400 W, 20 kHz, 12 mm probe diameter) at 25°C and the power of 350 W for 10 min, d-limonene was added into this solution gradually. pH of the solutions was adjusted to predetermined pH values (3, 6, 9) using HCL and NaOH (0.1 and 1N).

The viscosity was determined using a Brookfield viscometer (LVDV Pro II, Brook-field Engineering Laboratories, spindle S00, USA) at the temperature of 25°C and a shear rate of 18.3 1/s.

Color values ($L^*a^*b^*$) were measured by image analysis using Image J software. Only L^* index was reported because it was correlated well with the appearance of nanocomplex solutions.

An accelerated method was applied by centrifugation (3k30, Sigma, USA) at the temperature of 25°C and 20,000g for 60 min. The stability of solutions were calculated with Eq. 1.

$$\text{Stability (\%)} = \frac{\text{The volume of nanocomplex remained stable}}{\text{The volume of primary nanocomplex}} \times 100 \quad (1)$$

The particle size and zeta potential of prepared nanocomplex solutions were evaluated using a dynamic light scattering method (Zeta Sizer, Malvern Instrument, Malvern, UK).

Treatments were designed and analyzed by Central Composite Design pattern of Response Surface

1, 2 and 3. M.Sc. graduate, Professor and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

4. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Baharan Institute of Higher Education, Gorgan, Iran

(* Corresponding author E-mail: smjafari@gau.ac.ir)

Methodology through Design Expert Software (State-Ease Co., version 10). The effect of three independent variables of WPC content (4, 6, 8% w/w), pectin content (0.5, 0.75, 1% w/w) and pH values (3, 6, 9) on viscosity, color and stability of nanocomplex solutions was investigated to determine the optimum sample.

Results and discussion: The pH factor and zeta potential play a key role in the formation and stability of the whey protein-pectin complex because it influences the degree of ionization of the major groups on the polysaccharide and protein. The ratio of two biopolymers (whey protein and pectin) also plays an important role in the formation of sedimentary or stable complexes. Measuring the stability of samples showed that pectin could play an important role in their stability by increasing the negative potential around whey protein particles, and pH also had a great effect on stability, therefore samples at pH= 9 had the highest stability. In the determined concentrations of biopolymers, viscosity was strongly affected by pectin concentration, so by increasing pectin, viscosity was increased. The brightness index (L^*) of the samples was also more affected by pH and with the reduction of pH to acidic values, L^* index of samples was increased due to the formation of the sedimentary complex. Thus, the concentration of WPC = 4%, pectin = 1% at pH = 9, had the highest stability and the lowest L^* , and also pH=3, had the lowest stability, the highest L^* and the highest viscosity. In this study, the optimum ratio between whey protein and pectin was obtained 4: 1 for the formation of a complex with a particle size of about 160 nm and a zeta potential of -53 mV.

Keywords: Nanocomplex, Whey Protein, Orange Peel Oil, Pectin

Contents

Comparison of microbial diversity of ewe's drinking yogurt from somar region nomads using Next-Generation Sequencing and culture dependent molecular methods	698
N. Davati, S. Hesami	
The effect of packaging method on the physical, chemical, and organoleptic characteristics of walnut kernel during its storage	713
S. Rastegar, A. Shojaei, B. Tajeddin	
Determining the qualitative, textural and sensory characteristics of oil cakes made with flaxseed and oat bran as a fat replacement	724
S. Jamehdor, S. Movahhed, B. Ghiassi Tarazi	
Prediction of effective moisture diffusivity and specific energy consumption of eggplant in continuous band drying using some novel methods	741
M. Kaveh, R. Amiri Chachan, Y. Abbaspour Gilandeh, T. Mesri	
Antioxidant Activity of Gentisic and Alpha-resorcylic Acids in Bulk Oils and Emulsions	753
A. Mardani, R. Frhoosh, A. Sharif	
Evaluation of physicochemical properties of chicken nugget produced with amaranth seed flour	765
M. Tamsen, N. Soltanizadeh, H. Shekarchizadeh	
Mass transfer kinetics in infusion of phenolic compounds extracted from grape pomace into Aloe vera gel by osmotic dehydration	776
E. Azarpazhooh, P. Sharayei, F. Gheibi	
Effect of wheat germ oil extracted with microwave pretreatment on the oxidative stability of common Kilka (<i>Clupeonella cultriventris caspia</i>) oil	787
M. T. Golmakani, M. Mousavi Nasab, M. Keramat, A. Azhand	
Degradation kinetic of vitamin C (L-ascorbic acid) during simultaneous infrared dry-blanching and dehydration of apple slices with intermittent heating method	802
H. Sabbaghi, A. M. Ziaifar, M. Kashaninejad	
Evaluation of the effect of nisin, sodium acetate and temperature on the quality of <i>Ctenopharyngodon idella</i> fillet inoculated with <i>Staphylococcus aureus</i>	815
N. Cheraghi, E. Alizadeh doughikollaee, M. Shahriari Moghadam	
Effect of pomegranate flower extraction and vitamin B on the roasted doughnut's durability and sensory features	827
M. Heydari Ashkezari, M. Salehifar	
Evaluation of antimicrobial Activity of Two Lactobacillus Strains Isolated from Traditional Motal Cheese on shelf life of Yoghurt drink (Doogh)	846
S. Afzali, M. R. Edalatian Dovom, M. B. Habibi Najafi, M. Mazaheri Tehrani	
Cookie from extruded sorghum flour: Effect of extrusion and freezing conditions on frozen dough and cookie quality	864
N. Hasanoor, M. Mohebbi, A. Koocheki, E. Milani	
Effect of feed mixture and process variables on physicochemical properties of solid foams made from corn starch and sesame seed by extrusion	876
Sh. Beiraghi-Toosi, M. Mohebbi, M. Varidi	
Optimization of thin layer drying conditions of saffron petal using Response Surface methodology	889
P. Sharayei, H. Chaji	
Effect of feed mixture and extrusion temperature on physicochemical and sensory properties of barley flour- carrot pomace snack	906
S. lotfi Shirazi, A. Koocheki, E. Milani, M. Mohebbi	
Producing and optimizing the properties of chitosan-organic nanofiber biodegradable nanocomposite based containing <i>O. vulgare</i> subsp. <i>gracile</i> and <i>C. coticum</i> essential oils and its application on the oxidative stability of Canola oil	927
E. Jahed, H. Almasi, M. Alizadeh khaledabad	

Iranian Food Science and Technology Research Journal

Vol. 14

No. 5

2019

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.

Contents

Comparison of microbial diversity of ewe's drinking yogurt from somar region nomads using Next-Generation Sequencing and culture dependent molecular methods	698
N. Davati, S. Hesami	
The effect of packaging method on the physical, chemical, and organoleptic characteristics of walnut kernel during its storage	713
S. Rastegar, A. Shojaei, B. Tajeddin	
Determining the qualitative, textural and sensory characteristics of oil cakes made with flaxseed and oat bran as a fat replacement	724
S. Jamehdor, S. Movahhed, B. Ghiassi Tarazi	
Prediction of effective moisture diffusivity and specific energy consumption of eggplant in continuous band drying using some novel methods	741
M. Kaveh, R. Amiri Chachan, Y. Abbaspour Gilandeh, T. Mesri	
Antioxidant Activity of Gentisic and Alpha-resorcylic Acids in Bulk Oils and Emulsions	753
A. Mardani, R. Frhoosh, A. Sharif	
Evaluation of physicochemical properties of chicken nugget produced with amaranth seed flour	765
M. Tamsen, N. Soltanizadeh, H. Shekarchizadeh	
Mass transfer kinetics in infusion of phenolic compounds extracted from grape pomace into Aloe vera gel by osmotic dehydration	776
E. Azarpazhooh, P. Sharayei, F. Gheibi	
Effect of wheat germ oil extracted with microwave pretreatment on the oxidative stability of common Kilka (<i>Clupeonella cultriventris caspia</i>) oil	787
M. T. Golmakani, M. Mousavi Nasab, M. Keramat, A. Azhand	
Degradation kinetic of vitamin C (L-ascorbic acid) during simultaneous infrared dry-blanching and dehydration of apple slices with intermittent heating method	802
H. Sabbaghi, A. M. Ziaifar, M. Kashaninejad	
Evaluation of the effect of nisin, sodium acetate and temperature on the quality of <i>Ctenopharyngodon idella</i> fillet inoculated with <i>Staphylococcus aureus</i>	815
N. Cheraghi, E. Alizadeh doughikollae, M. Shahriari Moghadam	
Effect of pomegranate flower extraction and vitamin B on the roasted doughnut's durability and sensory features	827
M. Heydari Ashkezari, M. Salehifar	
Continue Content in cover	