

شاپا: ۴۱۶۱-۱۷۳۵

شماره پیاپی ۵۳

عنوان مقالات

- ۲۳۵..... ارزیابی پایداری اکسایشی روغن‌های زیتون سرخ کردنی طی فرآیندهای حرارتی و سرخ کردنی
فاطمه حبیبی نوده- رضا فرهوش- علی شریف
- ۲۴۵..... بررسی مقدار اسیدهای آلی، ویژگی‌های میکروبی و حسی ماست نوشیدنی پروبیوتیک حاوی گلوکز
اکسیداز تثبیت شده بر روی نانوذرات مغناطیسی کیتوزان
مریم عین علی افجه- رضوان پوراحمد- بهروز اکبری آدرگانی- مهرداد آذین
- ۲۵۷..... بررسی اثرات ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی اکسید روی و اثرات سینرژیستی با بیوسایدیهای مختلف بر علیه
باسیلوس سرئوس
زهره دیدار
- ۲۶۷..... استفاده از مواد شفاف کننده در تصفیه شربت خام چغندری
ادریس آرژه- میرخلیل پیروزی فرد- سجاد پیرسا
- ۲۸۱..... تأثیر پوشش کیتوزان حاوی عصاره علف لیمو بر کیفیت برش میوه "به" آگیری شده در طول دوره نگهداری
آتوسا عصارزادگان- محمد فاضل
- ۲۹۷..... تأثیر پیش حرارت‌دهی امواج مادون قرمز و میدان الکتریکی پالسی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب گوجه‌فرنگی
سارا آقاچان‌زاده سورکی- امان محمد ضیائی فر- مهدی کاشانی‌نژاد، عباس رضائی اصل
- ۳۰۹..... مطالعه سینتیک تخریب حرارتی دینامیکی بیوپلاستیک حاصل از آمیخته ژلاتین پای مرغ و آرد کامل سیب‌زمینی
حسام عمرانی فرد- محمدحسین عباسپورفرد- مهدی خجسته‌پور- علی دشتی
- ۳۲۳..... شناسایی فلور لاکتیکی هویج تخمیری با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی و بررسی روابط خویشاوندی
به کمک آنالیز فیلوژنتیکی
محمدابراهیم گوهرجو- محمدرضا عدالتیان دوم- فخری شهیدی- فریده طباطبایی یزدی- محمد جواد وریدی
- ۳۴۱..... تعیین رابطه بین حجم و وزن میوه گلابی با میزان کبودی در اثر اعمال بار ضربه‌ای با استفاده از روش غیرمخرب
سی تی اسکن
محسن آزادبخت- محمدجواد محمودی- محمد واحدی ترشیزی
- ۳۵۵..... بهینه‌سازی خشک کردن خلال‌های سیب‌زمینی با استفاده از پیش تیمار اُسمزی و روش سطح پاسخ
ناهید جعفری- سید حمیدرضا ضیاءالحق- عبدالرضا محمدی نافچی
- 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

مهر - آبان 1398

شماره 2

جلد 15

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

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر ناصر شاهنوشی

سر دبیر: دکتر سید محمد علی رضوی

کارشناس امور اجرایی: دکتر مسعود تقی زاده

اعضای هیئت تحریریه:

استاد، اقتصاد کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)

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

استادیار، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

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 محمداقبر حبیبی نجفی

دکتر اصغر خسروشاهی

دکتر مرتضی خمیری

دکتر سید محمد علی رضوی

دکتر محمد علی سحری

دکتر فخری شهیدی

دکتر ناصر صداقت

دکتر عسگر فرحناکی

دکتر رضا فرهوش

دکتر بی بی صدیقه فضلی بزاز

دکتر مهدی کاشانی نژاد

دکتر مهدی کدیور

دکتر سید علی مرتضوی

دکتر محمدجواد وریدی

ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

شمارگان: 250 نسخه

نشانی: مشهد - کد پستی 91775 صندوق پستی 1163

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

تلفن: 20-8795618 داخلی 321 نمابر: 8787430

این نشریه در پایگاههای زیر نمایه شده است:

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

پست الکترونیکی: ifstrj@um.ac.ir

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

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

مندرجات

- 235 ارزیابی پایداری اکسایشی روغن‌های زیتون سرخ‌کردنی طی فرآیندهای حرارتی و سرخ‌کردنی
فاطمه حبیبی نوده - رضا فرهوش - علی شریف
- 245 بررسی مقدار اسیدهای آلی، ویژگی‌های میکروبی و حسی ماست نوشیدنی پروبیوتیک حاوی گلوکز اکسیداز تثبیت شده بر روی
نانوذرات مغناطیسی کیتوزان
مریم عین علی افجه - رضوان پوراحمد - بهروز اکبری آدرگانی - مهرداد آذین
- 257 بررسی اثرات ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی اکسید روی و اثرات سینرژیستی با بیوسایدیهای مختلف بر علیه باسیلوس سرئوس
زهره دیدار
- 267 استفاده از مواد شفاف‌کننده در تصفیه شربت خام چغندری
ادریس آرزو - میرخلیل پیروزی فرد - سجاد پیرسا
- 281 تأثیر پوشش کیتوزان حاوی عصاره علف لیمو بر کیفیت برش میوه "به" آبگیری شده در طول دوره نگهداری
آتوسا عصارزادگان - محمد فاضل
- 297 تأثیر پیش‌حرارت‌دهی امواج مادون قرمز و میدان الکتریکی پالسی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب گوجه‌فرنگی
سارا آقاچان‌زاده سورکی - امان محمد ضیائی فر - مهدی کاشانی‌نژاد، عباس رضائی اصل
- 309 مطالعه سینتیک تخریب حرارتی دینامیکی بیوپلاستیک حاصل از آمیخته ژلاتین پای مرغ و آرد کامل سیب‌زمینی
حسام عمرانی فرد - محمدحسین عباسپور فرد - مهدی خجسته‌پور - علی دشتی
- 323 شناسایی فلور لاکتیکی هویج تخمیری با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی و بررسی روابط خویشاوندی به کمک آنالیز
فیلوژنتیکی
محمدابراهیم گوهرجو - محمدرضا عدالتیان دوم - فخری شهیدی - فریده طباطبایی یزدی - محمد جواد وریدی
- 341 تعیین رابطه بین حجم و وزن میوه گلایی با میزان کیبودی در اثر اعمال بار ضربه‌ای با استفاده از روش غیرمخرب سی تی اسکن
محسن آزادبخت - محمدجواد محمودی - محمد واحدی ترشیزی
- 355 بهینه‌سازی خشک کردن خلال‌های سیب‌زمینی با استفاده از پیش‌تیمار آسمزی و روش سطح پاسخ
ناهید جعفری - سید حمیدرضا ضیاءالحق - عبدالرضا محمدی نافچی
- 369 بررسی پتانسیل زغال فعال تولیدی از پوست انار به‌عنوان جاذب رنگ و فلزات دو و سه ظرفیتی در محیط‌های مایع
نرگس هادی گل - مریم فهیم دانش - سپیده حسینی
- 381 تأثیر کنستانتره آب نارنج و پوشش خوراکی کیتوزان غنی شده با اسانس فلفل سیاه بر بهبود خواص آنتی‌اکسیدانی و حسی فیله ماهی
قرل‌آلای رنگین کمان
فهیمه توریان - مریم عزیزخانی

ارزیابی پایداری اکسایشی روغن‌های زیتون سرخ‌کردنی طی فرآیندهای حرارتی و سرخ‌کردنی

فاطمه حبیبی نوده¹ - رضا فرهوش^{2*} - علی شریف³

تاریخ دریافت: 1397/05/05

تاریخ پذیرش: 1397/10/25

چکیده

در این تحقیق، شاخص پایداری اکسایشی روغن (OSI) و دوره القا ترکیبات کربونیلی (IPCV) و زمان پایداری سرخ کردن ($t_{f_{cv}=47}$) (زمان مورد نیاز جهت رسیدن به حد بحرانی 47 میکرومول بر گرم ترکیبات کربونیلی) یک مجموعه‌ای از روغن‌های زیتون به ترتیب در دو شرایط فرآیند حرارتی (آزمون رنسیمت در دماهای 110 تا 140 درجه سانتی‌گراد) و فرآیند سرخ کردن در 180 درجه سانتی‌گراد بررسی گردید. همبستگی خوبی ($R^2=0.9963$) بین شاخص پایداری اکسایشی (OSI) و دوره القا ترکیبات کربونیلی (IPCV) در آزمون حرارتی رنسیمت، مشاهده گردید. در دماهای مشابه آزمون رنسیمت، شاخص پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن تفاوت معنی‌داری را نشان داد. بیشترین و کمترین OSI و IPCV به ترتیب در نمونه‌های 6 و 1 مشاهده گردید. با بالا رفتن درجه حرارت، سرعت اکسایش نمونه‌های مورد مطالعه افزایش و شاخص‌های پایداری اکسایشی کاهش یافت. بیشترین همبستگی ($R^2=0.9985$) از رسم زمان‌های پایداری سرخ کردن ($t_{f_{cv}=47}$) در مقابل IPCV در 110 درجه سانتی‌گراد به دست آمد و با افزایش دما تا 140 درجه سانتی‌گراد میزان این همبستگی کاهش یافت که این مسئله می‌تواند به تفاوت مکانیسم‌های اکسایش لیپیدی در دمای بالا و پائین مرتبط باشد.

واژه‌های کلیدی: سرخ کردن، روغن زیتون، پایداری اکسایشی، رنسیمت.

مقدمه

سرخ کردن یکی از فرآیندهای رایج در صنعت مواد غذایی است که طی آن روغن به مدت زیاد در معرض دماهای بالا (175 تا 200 درجه سانتی‌گراد) قرار می‌گیرد. این عملیات حرارتی شدید در حضور هوا و آب ناشی از ماده غذایی، واکنش‌های مخربی را چون اکسایش، هیدرولیز و پلیمری شدن اسیدهای چرب غیراشباع موجب می‌شود. این واکنش‌ها باعث تغییر ساختار شیمیایی و تشکیل مشتقات فرار و غیرفرار اکسیده، ترکیبات دیمری، پلیمری و یا حلقوی می‌گردد. ترکیبات مذکور نه تنها ویژگی‌های حسی بلکه خواص تغذیه‌ای محصول را تحت تاثیر قرار می‌دهند و سلامت مصرف‌کننده را به خطر می‌اندازند (Soupas *et al.*, 2004; Chow, 2007 & Chang *et al.*, 1978). یکی از عوامل تاثیرگذار در شدت تغییرات مذکور، نوع و کیفیت روغن مصرفی است. بنابراین، پایداری حرارتی و عملکرد روغن طی سرخ کردن در کنار ارزش تغذیه‌ای مناسب آن، به عنوان یکی از ضوابط مهم در انتخاب روغن سرخ‌کردنی مطرح می‌باشد (Kmiciek *et al.*, 2013).
ترکیب شیمیایی متوازن روغن زیتون به واسطه دارا بودن مقادیر بالایی از اسید چرب تک غیراشباع اسید اولئیک، میزان کم اسیدهای چندغیراشباع و حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی، آن را به عنوان گزینه ارزشمندی برای اهداف سرخ کردن مطرح می‌سازد. بررسی‌ها در خصوص حفظ و تضمین کیفیت نشان می‌دهد خوداکسایش⁴ لیپیدی به عنوان مهمترین واکنش تخریب‌کننده کیفیت در روغن زیتون به شمار می‌رود و سرعت آن که وابستگی نمایی با دما دارد، پایداری اکسایشی⁵ یا زمان ماندگاری محصول را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Farhoosh and Hoseini-Yazdi, 2013a). این واکنش متجر به تشکیل طیف وسیعی از ترکیبات اکسایشی اولیه و ثانویه می‌گردد. هیدروپراکسیدها به عنوان محصولات اولیه اکسایش، ترکیبات ناپایدار بوده و به ترکیبات ثانویه اکسایش لیپیدی تجزیه می‌گردند و در نتیجه نمی‌توانند به عنوان شاخص مناسبی جهت ارزیابی پایداری اکسایشی روغن‌ها در درجه حرارت‌های بیش از 100 درجه سانتی‌گراد مورد استفاده قرار گیرد (Frankel, 1998; Reynhout, 1991). در حالیکه محصولات ثانویه اکسایش به ویژه

1، 2 و 3- به ترتیب 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.v15i2.74403

کمیت‌های شیمیایی

نسبت MUFA/PUFA که عبارتست از نسبت اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA)¹ به چند غیراشباع (PUFA)² می‌باشد، براساس تعیین ساختار اسید چربی نمونه‌ها به روش کروماتوگرافی گازی تعیین شد (Farhoosh, 2008). عدد پراکسید بر طبق روش تیوسیانات اندازه‌گیری گردید (Shantha and Decker, 1994). عدد اسیدی بر طبق روش انجمن شیمی‌دانان روغن آمریکا تعیین شد (AOCS, 1993). تعیین مقدار ترکیبات توکوفرولی به روش رنگ‌سنجی بود (Wong et al., 1988). ترکیبات فنلی به روش طیف‌سنجی و با استفاده از معرف فولین - سیو کالچو تعیین مقدار گردید (Capannesi et al., 2000). عدد کربونیل نمونه‌های روغن در فواصل زمانی معین و با استفاده از 2- پروپانول به‌عنوان حلال و 4و2- دکادی انال به‌عنوان استاندارد تعیین مقدار گردید (Endo et al., 2001; Farhoosh and Moosavi, 2006).

آزمون رنسیمت

برای تعیین شاخص پایداری اکسایشی (OSI)³ از دستگاه رنسیمت مدل 743 استفاده گردید. برای این منظور، 16 گرم نمونه روغن در دمای 110، 120، 130 و 140 درجه سانتی‌گراد مورد آزمایش قرار گرفت و سرعت جریان هوا 25 لیتر بر ساعت تنظیم شد. همچنین با تغییرات اعمال شده در طراحی دستگاه و نمونه‌برداری در حین آزمون رنسیمت، گسترش سایر ترکیبات اکسایشی (ترکیبات کربونیلی، ترکیبات دی‌ان‌مزدوج و ترکیبات پراکسیدی) نیز مورد بررسی قرار گرفت که در این پژوهش فقط مقادیر مربوط به ترکیبات کربونیلی گزارش گردیده است (Farhoosh and Hoseini-Yazdi, 2013b). گسترش ترکیبات کربونیلی در طول اکسایش روغن زیتون طی آزمون رنسیمت، منحنی سینتیکی اکسایشی شامل دو ناحیه خطی را فراهم می‌کند. ناحیه خطی اول با شیب کم که به‌عنوان فاز اولیه⁴ اکسایش شناخته شده است و بدنال آن ناحیه خطی دوم با مقادیر شیب بالا که فاز انتشار⁵ نامیده می‌شود. نقطه تقاطع خطوط مماس شده بر این دو ناحیه خطی، دوره القا مربوط به این دسته از ترکیبات (IPCV) را نشان می‌دهد که می‌تواند به‌عنوان معیار مناسبی خصوصاً جهت بررسی وضعیت اکسایشی روغن زیتون سرخ‌کردنی در نظر گرفته شود (Farhoosh and Hoseini-Yazdi, 2013b).

ترکیبات کربونیلی شاخص بهتری در خصوص تغییرات اکسایشی روغن‌ها تلقی می‌گردد؛ زیرا این ترکیبات حائز پایداری بیشتری نسبت به هیدروپراکسیدها هستند و نیز سهم عمده‌ای در بروز طعم‌های تند و ناخوشایند روغن‌های اکسیده دارند. بنابراین، مطالعه پایداری اکسایشی روغن زیتون سرخ‌کردنی به‌ویژه از نظر محصولات ثانویه اکسایشی (ترکیبات کربونیلی) طی فرآیند مذکور امری ضروری به شمار می‌رود (Endo et al., 2001; Guillen et al., 2002). پژوهش‌های متعددی در خصوص پدیده اکسایش و ارزیابی پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی تحت شرایط سرخ‌کردن صورت گرفته است اما پیچیدگی این فرآیند به دلیل عوامل مختلف موثر بر آن، همچون نوع و شرایط فرآیند (مداوم یا غیرمداوم، دما و زمان، وزن ماده غذایی و حجم روغن مصرفی) و برهمکنش‌های قوی بین این متغیرها، حصول نتایج تکرارپذیر را طی این ارزیابی‌ها دشوار و زمان‌بر می‌سازد. این موجب به‌کارگیری سامانه‌های مدل به‌منظور ساده‌سازی و کنترل عوامل موثر در فرآیند مذکور گردیده است (Sánchez-Muniz et al., 2007; Machado et al., 1993). آزمون دستگاهی رنسیمت در بین روشهای تسریع شده اندازه‌گیری اکسایش لیپیدی، به‌واسطه سهولت کار و تکرارپذیری داده‌ها مورد توجه قرار گرفته است (Farhoosh, 2007). گرچه اساس این آزمون بر اندازه‌گیری طیف دیگری از محصولات اکسایش لیپیدی (اسیدهای آلی سبک) استوار شده است اما با تغییراتی در طراحی دستگاه می‌توان روند تغییرات سایر محصولات اکسایشی به‌ویژه ترکیبات کربونیلی که عاملی مهم در تندی اکسایشی اقلمداد می‌شوند، را نیز در کنار شاخص پایداری اکسایش (OSI) بررسی نمود. (Farhoosh and Hoseini-Yazdi, 2013b). در حال حاضر با وجود اینکه تخمین پایداری اکسایشی روغن‌ها و چربی‌های خوراکی بر حسب روش‌های تسریع شده، کاربرد گسترده و روزافزونی پیدا کرده است، اما همواره نگرانی‌هایی در خصوص تطابق نتایج چنین آزمون‌هایی با نتایج فراهم شده تحت شرایط واقعی سرخ‌کردن و حضور ماده غذایی وجود دارد. لذا پژوهش حاضر، با هدف مطالعه همزمان شاخص‌های اکسایشی طی آزمون رنسیمت و سرخ‌کردن برای قضاوت و تعمیم نتایج آن به یکدیگر، جهت بهره‌گیری از آزمون‌های ساده‌تر برای ارزیابی پایداری اکسایشی و زمان دورریز روغن زیتون سرخ‌کردنی در بازه زمانی کوتاه‌تر اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

شش نوع روغن زیتون تصفیه شده از بازار محلی خریداری و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استاندارد متیل استر اسیدهای چرب و تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق از درجه تجزیه‌ای بودند و از شرکت‌های مرک و سیگما تامین گردیدند.

- 1 Monounsaturated fatty acids
- 2 Polyunsaturated fatty acids
- 3 Oil/ Oxidative stability index
- 4 Initiation phase
- 5 Propagation phase

فرآیند سرخ کردن

عملیات سرخ کردن با سرخ‌کن‌های خانگی مجهز به ترموستات و سبد توری استیل زنگ‌نزن (Tefal model 1250, France) صورت گرفت. مقدار 15 گرم خلال سیب‌زمینی (7/0 × 0/5 × 0/3 cm) برای هر بار سرخ کردن در نظر گرفته شد تا از سرد شدن روغن هنگام اضافه کردن خلال‌ها به روغن اجتناب گردد. نسبت سیب‌زمینی به روغن در کل مدت سرخ کردن ثابت بود. خلال‌های سیب‌زمینی به مدت 5 دقیقه در دمای 180±5 درجه سانتی‌گراد سرخ شدند. زمان استراحتی معادل 15 دقیقه بین دو مرحله سرخ کردن در نظر گرفته شد. فرآیند سرخ کردن در هر روز کاری 8 ساعت انجام گرفت و هر 4 ساعت حدود 10 گرم نمونه روغن از هر سرخ‌کن برداشته شد و پس از سرد کردن تا دمای اتاق و تزیق گاز ازت تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. این عملیات در دو تکرار صورت گرفت (Tyagi and Vasishtha, 1996).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایشات در دو تکرار انجام و نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس گردید. تجزیه واریانس و تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار متلب و اکسل صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 5 درصد انجام شد.

نتایج و بحث

ساختار شیمیایی روغن‌های زیتون

کمیت‌های شیمیایی روغن‌های زیتون مورد مطالعه در جدول 1 نشان داده شده است. بالاترین نسبت MUFA/ PUFA به نمونه

روغن شماره 6 (9/62) و کمترین آن به روغن شماره 1 (3/9) تعلق داشت. این نسبت به‌عنوان معیاری از مقاومت روغن به اکسایش می‌باشد و مقادیر بالاتر بیانگر پایداری اکسایشی بیشتر نمونه روغن می‌باشد. همانگونه که در جدول 1 مشخص شده است روغن‌های مورد مطالعه دارای محدوده گسترده‌ای از اعداد پراکسید حدود 7/02-1/26 میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن و محدوده مشابهی از اعداد اسیدی حدود 0/6-0/4 میلی گرم بر گرم بودند که این مقادیر در توافق با سطوح مجاز گزارش شده برای روغن زیتون تصفیه شده توسط سازمان بین‌المللی روغن زیتون (IOOC) می‌باشد (Firestone, 2005). نمونه‌های روغن مورد بررسی، تفاوت‌های معنی‌دار آماری را از نظر محتوای ترکیبات توکوفرولی کل (150/12-458/93 میلی‌گرم آلفا توکوفرول بر کیلوگرم روغن) و ترکیبات فنلی کل (38/7-11/23 میلی‌گرم اسید گالیک بر کیلوگرم روغن) نشان دادند که این مسئله بیانگر پتانسیل آنتی‌اکسیدانی متفاوت نمونه‌های روغن می‌باشد. توکوفرول‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی هستند که با پایان دادن به مکانیسم‌های زنجیری رادیکال آزاد از اکسایش ممانعت به‌عمل می‌آورند. آلفا توکوفرول عمده‌ترین ترکیب توکوفرولی در روغن زیتون بوده و غلظت آن از 12-190 میلی‌گرم بر کیلوگرم متفاوت است (Firestone, 2005). ترکیبات فنلی موجود در روغن زیتون، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی و بازدارنده‌های رادیکالی محسوب می‌شوند و محتوای آنها در روغن زیتون بکر حدود 50-1000 پی‌پی‌ام می‌باشد. اولئوروپین، هیدروکسی تیروزول و تیروزول از مهمترین این ترکیبات به‌شمار می‌روند (Boskou et al., 2005). مقادیر پائین‌تر ترکیبات فنلی در نمونه‌های روغن مورد مطالعه می‌تواند به دلیل اثرات عملیات تصفیه بر این ترکیبات باشد.

جدول 1- ویژگی‌های شیمیایی روغن‌های زیتون مورد مطالعه

نمونه‌های روغن زیتون مورد مطالعه						
6	5	4	3	2	1	
16/18 ^c	14/39 ^d	19/53 ^b	21/41 ^a	22/11 ^a	14/36 ^d	اسیدهای چرب اشباع
66/68 ^a	66/63 ^{ab}	65/32 ^c	65/89 ^{bc}	64/02 ^d	65/64 ^c	اسیدهای چرب تک غیراشباعی
6/95 ^e	8/01 ^d	8/22 ^{cd}	8/52 ^c	10/34 ^b	16/81 ^a	اسیدهای چرب چند غیراشباعی
9/62 ^a	8/32 ^b	7/95 ^{bc}	7/73 ^c	6/19 ^d	3/90 ^e	MUFA/PUFA
1/87 ^e	7/02 ^a	2/02 ^d	1/26 ^f	3/32 ^c	3/75 ^b	عدد پراکسید
0/60 ^a	0/40 ^b	0/40 ^b	0/60 ^a	0/50 ^{ab}	0/50 ^{ab}	عدد اسیدی
278/70 ^c	458/93 ^a	223/20 ^d	287/70 ^c	150/12 ^d	315/18 ^b	ترکیبات توکوفرولی کل (ppm)
20/71 ^c	12/34 ^d	33/52 ^b	38/70 ^a	11/23 ^d	10/15 ^d	ترکیبات فنلی (ppm)

ارقام دارای حروف مشترک در هر ردیف از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون دانکن، p<0/05).

آزمون رنسیمت

جدول 2 مقادیر OSI و IPCV را برای نمونه‌های روغن زیتون در دماهای 140-110 درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. در همه دماهای مورد بررسی، نمونه شماره 6 بیشترین پایداری اکسایشی را نشان داد که این موضوع اساساً با ساختار شیمیایی آن از نظر بالاترین نسبت MUFA/ PUFA (9/62) و عدد پراکسید پایین (1/87) میلی‌اکی‌والان گرم بر کیلوگرم) مرتبط می‌باشد. در حالیکه نمونه شماره 1 با داشتن پائین‌ترین نسبت MUFA/ PUFA (3/9) و با وجود داشتن ترکیبات توکوفرولی بالاتر نسبت به نمونه شماره 2 کمترین پایداری اکسایشی را نشان می‌دهد که این مسئله نقش برجسته ساختار اسید چربی را در پایداری اکسایشی روغن زیتون نشان می‌دهد. همانگونه که در جدول 2 مشاهده می‌گردد با افزایش دما، OSI به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد. کاهش در شاخص پایداری اکسایشی روغن با افزایش دما، می‌تواند به دلیل حساسیت حرارتی ترکیبات توکوفرولی و فلی و در نتیجه کاهش این ترکیبات در نمونه‌های روغن باشد.

دوره القا ترکیبات کربونیلی (IPCV) حاصل از منحنی سینتیکی اکسایشی فراهم شده در آزمون رنسیمت، همبستگی بالایی

دارد. در آزمون رنسیمت، همبستگی بالایی

جدول 2- شاخص پایداری اکسایشی (OSI و IPCV، ساعت) نمونه‌های روغن زیتون در 110 تا 140 درجه سانتی‌گراد.

روغن	IPCVCV				OSI			
	140	130	120	110	140	130	120	110
1	0/90 ^e	1/62 ^f	3/08 ^d	6/93 ^d	0/91 ^e	1/67 ^f	3/14 ^e	7/11 ^d
2	0/92 ^e	1/80 ^e	3/18 ^d	8/13 ^c	0/94 ^e	1/83 ^e	3/43 ^d	8/76 ^c
3	1/00 ^d	2/29 ^d	5/26 ^c	12/67 ^b	1/04 ^d	2/34 ^d	5/58 ^c	13/09 ^b
4	1/34 ^c	2/89 ^c	5/78 ^b	12/89 ^b	1/35 ^c	3/04 ^c	6/03 ^b	13/15 ^b
5	1/57 ^b	3/17 ^b	5/98 ^b	12/91 ^b	1/60 ^b	3/19 ^b	6/23 ^b	13/29 ^b
6	1/93 ^a	3/66 ^a	7/40 ^a	16/29 ^a	1/94 ^a	3/70 ^a	8/60 ^a	16/87 ^a

ارقام دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون دانکن، $p < 0/05$).

متناظر با میزان 27-24 درصد ترکیبات قطبی بود که شاخصی بسیار مهم و قابل اعتماد در ارزیابی کیفیت روغن‌های سرخ کردنی است (Melton et al., 1994). در این مطالعه ترکیبات قطبی نمونه‌های روغن نیز تا رسیدن به حدود بحرانی این ترکیبات نیز (27-24 درصد) بررسی گردید که در شکل 2 گزارش شده است. برطبق مطالعات فرهوش و همکاران (2012) معادله زیر جهت بررسی رفتار اکسایشی نمونه‌های روغن در طول فرآیند سرخ کردن استفاده گردید. در این مطالعه، روند تغییرات ترکیبات کربونیلی در دمای بالا از این معادله با ضرایب تبیین بالای 0/98 تبعیت نمود (جدول 3).

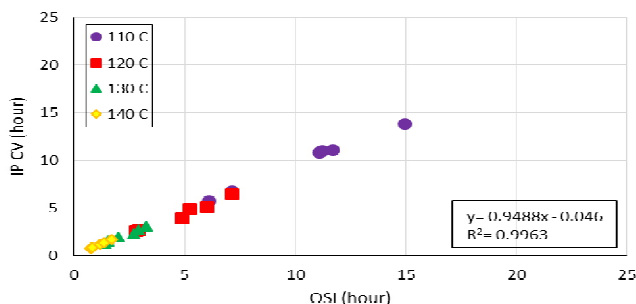
$$CV = a - b \exp(-t/c) \quad (1)$$

فرآیند سرخ کردن

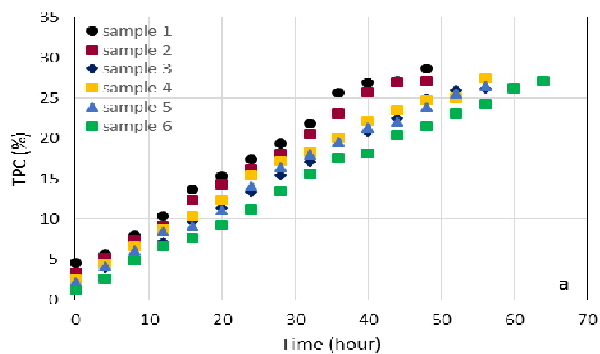
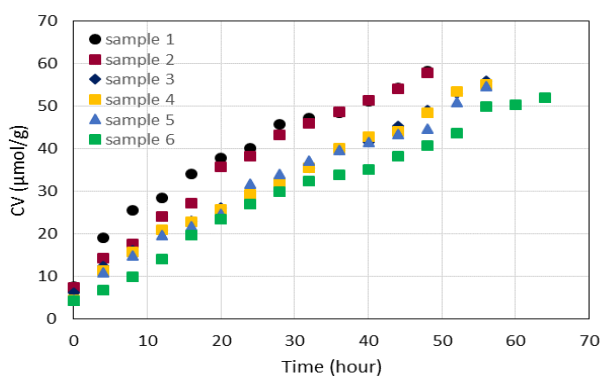
روند تغییرات عدد کربونیل نمونه‌های روغن زیتون در 180 درجه سانتی‌گراد در شکل 3 نشان داده شده است. روغن‌های زیتون تازه سطوح متفاوتی از ترکیبات کربونیلی را (4/31-7/75 میکرومول بر گرم) نشان دادند که با افزایش زمان حرارت‌دهی در طول سرخ کردن میزان این ترکیبات با سرعت‌های متفاوتی به 52/13-58/34 میکرومول بر گرم رسید. مطالعات قبلی بر روی بررسی نقاط دوریز روغن‌های زیتون نشان داد که روغن‌های زیتون حاوی 45/1-51 میکرومول بر گرم هنوز ایمن و بدون طعم‌های نامطلوب هستند (Farhoosh et al., 2012). در این مطالعه تمامی نمونه‌های مورد بررسی به این حد بحرانی ترکیبات کربونیلی در طول فرآیند سرخ کردن رسیدند. لازم به ذکر است که این حد از ترکیبات کربونیلی

میکرومول بر گرم می باشد، زمان رسیدن به این مقدار ($tf_{cv} = 47$) به‌عنوان معیاری از پایداری اکسایشی محاسبه و در جدول 5 گزارش گردیده است (Farhoosh *et al.*, 2012).

a, b و c پارامترهای معادله هستند که از برازش این معادله بر داده‌های کربنیل در طول زمان سرخ در نرم‌افزار متلب به‌دست می‌آید. با فرض اینکه حدود قابل قبول جهت ترکیبات کربونیلی 47



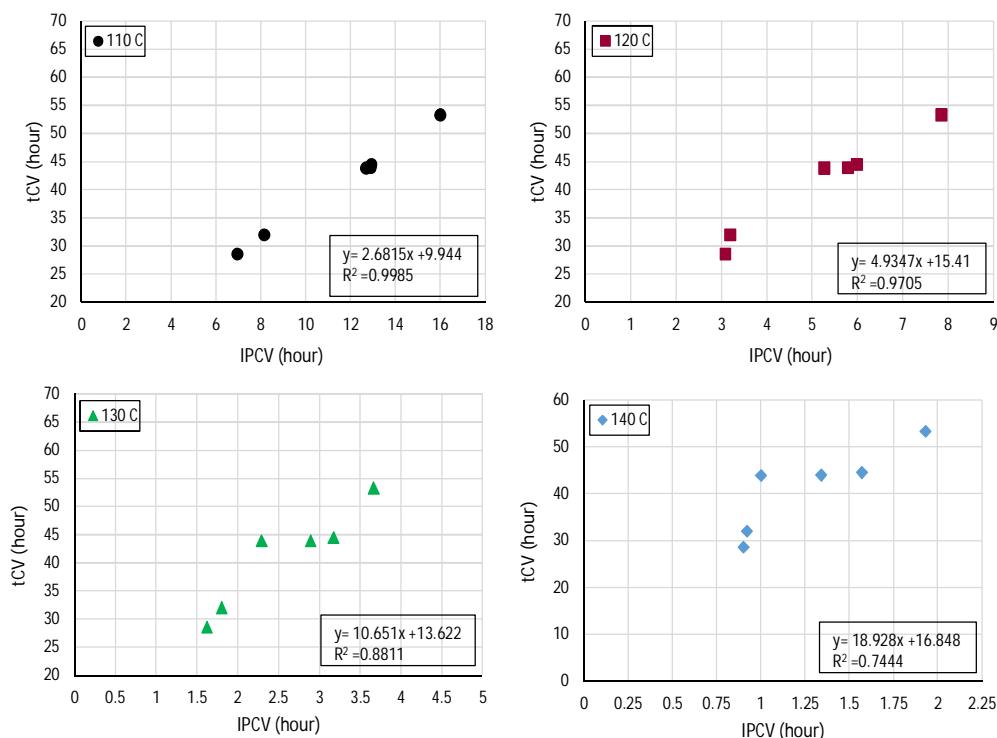
شکل 1- رابطه بین شاخص پایداری اکسایش روغن (OSI) و دوره القا تشکیل ترکیبات کربونیلی (IPCV) در اکسایش نمونه‌های روغن زیتون در آزمون رنسیمت در 110 تا 140 درجه سانتی‌گراد



شکل 2- تغییر میزان ترکیبات کربونیلی و ترکیبات قطبی نمونه‌های روغن زیتون طی سرخ کردن در 180 درجه سانتی‌گراد. مقایسه پایداری اکسایشی حاصل از رنسیمت و سرخ کردن

جدول 3- معادلات رگرسیونی برازش داده شده بر داده‌های کربونیلی در برابر زمان نمونه‌های روغن زیتون در طول سرخ کردن در 180 درجه سانتی‌گراد.

$t_{f\ cv=47}$	R^2	$CV = a-b \exp(-t/c)$			
		C	B	A	
32/41	0/9897	30/38	57/77	66/88	1
33/62	0/9954	50/81	82/44	89/54	2
45/22	0/9962	292/40	270/80	279/00	3
45/54	0/9941	144/70	149/00	156/50	4
48/56	0/9907	76/96	90/50	95/15	5
55/31	0/9913	100/50	102/30	106/00	6



شکل 3- همبستگی میان $t_{f\ cv=47}$ فرآیند سرخ کردن و شاخص Ipev به‌دست آمده از آزمون رنسیمت در بازه دمایی 110 تا 140 درجه سانتی‌گراد برای نمونه‌های روغن زیتون مورد مطالعه

اکسایشی پایین‌تری را هم از نظر OSI و هم IPCV نسبت به شاخص پایداری اکسایشی ($t_{f\ cv=47}$) در شرایط سرخ کردن نشان می‌دهد که این مسئله می‌تواند با تفاوت در پارامترهای عملیاتی همچون اندازه نمونه روغن، نسبت سطح به حجم روغن، دما و غلظت اکسیژن مرتبط باشد. در شرایط آزمون رنسیمت، اندازه کوچکتری از نمونه روغن (16 گرم) نسبت به فرآیند سرخ کردن (2 لیتر) استفاده گردید. علاوه بر این دستگاه رنسیمت سرعت جریان بالایی از هوا (25 لیتر بر

با توجه به اینکه امروزه آزمون تسریع شده رنسیمت کاربرد گسترده‌ای جهت تعیین پایداری اکسایشی روغن‌ها پیدا کرده است، بررسی و مقایسه نتایج پایداری حاصل از این آزمون با نتایج پایداری روغن تحت شرایط واقعی همچون سرخ کردن و به‌دنبال آن تعیین بهترین شرایط آزمون دستگاهی رنسیمت جهت تخمین دقیق‌تر و واقعی‌تر پایداری روغن در شرایط سرخ کردن ضروری است. به‌طور کلی در این مطالعه، آزمون دستگاهی رنسیمت شاخص پایداری

تغییرات بیشتری شوند وارد فاز گازی می‌گردند در صورتی که در دماهای پایین‌تر، پدیده اکسایش گام به گام، رفتار اکسایشی شبیه‌تری را نسبت به فرآیند سرخ کردن فراهم آورده و همبستگی بالاتری را با این فرآیند نشان می‌دهد

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر همبستگی خوبی را بین شاخص پایداری اکسایشی OSI و دوره القا ترکیبات کربونیلی (IPcv) در آزمون رنسیمت در دمای 140-110 درجه سانتی‌گراد نشان داد. مقایسه نتایج آزمون‌های پایداری اکسایشی، شرایط اکسایشی شدیدتری را در آزمون دستگاهی رنسیمت نسبت به فرآیند سرخ کردن نشان داد؛ بدین معنی که مقادیر OSI و IP به‌دست آمده در محدوده دمایی مورد مطالعه در آزمون رنسیمت، بسیار پایین‌تر از زمان‌های پایداری سرخ کردن بود. چنین وضعیتی با تفاوت در پارامترهای عملیاتی این دو فرآیند مرتبط است. شاخص پایداری اکسایشی (IPcv) در دمای 110 درجه سانتی‌گراد همبستگی بالایی را با زمان پایداری سرخ کردن نشان داد و با افزایش دما در آزمون رنسیمت، این همبستگی کاهش یافت که این امر به تفاوت مکانیسم واکنش‌ها در دمای بالا و پایین این آزمون حرارتی بر می‌گردد. همخوانی بسیار خوب داده‌های روش دستگاهی رنسیمت در دمای 110 درجه سانتی‌گراد با زمان‌های پایداری فرآیند سرخ کردن، حاکی از آن است که آزمون حرارتی رنسیمت در این شرایط دمایی می‌تواند قضاوت واقعی‌تر و صحیح‌تری را در خصوص ارزیابی پایداری روغن‌های خوراکی در فرآیند سرخ کردن مواد غذایی ارائه دهد. بدون شک تحقیقات بیشتری جهت گسترش نتایج پژوهش حاضر به دامنه وسیع‌تری از روغن‌های سرخ‌کردنی نیاز است.

را به داخل نمونه روغن دمیده می‌شود در حالیکه در شرایط سرخ کردن، فقط لایه سطحی روغن با هوا در تماس می‌باشد. از سوی دیگر در سیستم‌های سرخ کردن کشش بین سطحی بالا، لایه‌ای از بخار آب را در سطح روغن ایجاد کرده که این مسئله تماس هوا را با روغن کاهش می‌دهد. لذا این عوامل در کنار هم، زمان‌های پایداری اکسایشی کوتاه‌تر و سریع‌تری را در آزمون رنسیمت نسبت به فرآیند سرخ کردن فراهم می‌آورد (Blumenthal., 1991; Tan et al., 2002 & Choe et al., 2007).

همبستگی بین $t_{f_{cv}=47}$ فرآیند سرخ کردن و شاخص‌های OSI و IPcv به‌دست آمده از آزمون رنسیمت در بازه دمایی 110 تا 140 درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. باتوجه به همبستگی بالای شاخص OSI و IPcv در آزمون رنسیمت و از طرفی اهمیت ترکیبات کربونیلی در ارزیابی کیفیت روغن‌های حرارت دیده و سرخ‌کردنی، در این پژوهش فقط به بیان این همبستگی در ارتباط با شاخص پایداری IPcv در آزمون رنسیمت اکتفا گردیده است (شکل 2). بررسی‌ها بیشترین همبستگی ($R^2=0.9985$) را بین IPcv در 110 درجه سانتی‌گراد و زمان پایداری سرخ کردن نشان داد. با افزایش دما تا 140 درجه سانتی‌گراد، میزان این همبستگی به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت که این مسئله می‌تواند ناشی از تفاوت مکانیسم‌های اکسایش لیپیدی در دماهای بالا و پائین طی آزمون حرارتی رنسیمت باشد. سیستم‌های لیپیدی شماری از واکنش‌های افزایشی را در دماهای پایین‌تر تحمل می‌کنند که این واکنش‌ها ممکن است در دماهای بالاتر رخ ندهند (Farhoosh et al., 2008). لاکوست و لاگدر (2003) تشکیل ترکیبات پلیمری را که به‌طور معمول در دماهای سرخ کردن تولید می‌گردند، نیز طی اکسایش لیپیدی در آزمون رنسیمت در 110 درجه سانتی‌گراد گزارش کردند. در دماهای بالا، محصولات اکسایشی اولیه به سرعت تجزیه و قبل از اینکه دچار

منابع

- AOCS. 1993. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*, Champaign: AOCS Press.
- Berasategi, I., Barriuso, B., Ansorena, D., & Astiasarán, I. 2012. Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. *Food Chemistry*, 132, 439-446.
- Blumenthal, M.M. 1991. A new look at the chemistry and physics of deep-fat frying. *Food Technology*, 45, 68-71.
- Boskou, D., Blekas, G., & Tsimidou, M. 2005. Phenolic compounds in olive oil and olives. *Current Topics in Nutritional Research*, 3, 125-136.
- Chang, S. S., Peterson, R.J., & Ho, C. 1978. Chemical reaction involved in the deep-fat frying of foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55, 718-725.
- Chow, C. K. 2007. *Fatty acids in foods and their health implications*. 3rd ed
- Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M., & Parenti, A. 2000. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*, 71, 553-562.
- Endo, Y., Li, C. M., Tagiri-Endo, M., & Fugimoto, K. 2001. A modified method for the estimation of total carbonyl compounds in heated and frying oils using 2-propanol as solvent. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 10, 1021-1024.

- Farhoosh, R., & Moosavi, S. M. R. 2006. Rancimat test for the assessment of used frying oils quality. *Journal of Food Lipids*, 14, 263- 271.
- Farhoosh, R. 2007. The effect of operational parameters of the rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84, 205-209.
- Farhoosh, R., Niazmand, R., Rezaei, M., & Sarabi, M. 2008. Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under Rancimat test conditions. *European Journal of Lipid Science and technology*, 110, 587-592.
- Farhoosh, R., & Moosavi, S. M. R. 2008. Carbonyl value in monitoring of the quality of used frying oils. *Analytical Chimica Acta*, 617, 18-21.
- Farhoosh, R., Haddad Khodaparast, M. H., Sharif, A., and Alavi Rafiee, S. 2012a. Olive oil oxidation: Rejection points in terms of polar, conjugated diene, and carbonyl values. *Food Chemistry*, 131, 1385-1390.
- Farhoosh, R., Haddad Khodaparast, M. H., Sharif, A., Zamani-Ghalehshahi, and Hoseini-Yazdi, S. Z. 2012b. Oxidative stability of virgin olive oil as affected by the Bene unsaponifiable matters and Tertiary-Butylhydroquinone. *Journal of food Science*, 77, 697-702.
- Farhoosh, R., & Hoseini-Yazdi, S. Z. 2013a. Shelf- life prediction of olive oils using empirical models developed at low and high temperatures. *Food Chemistry*, 141, 557-565.
- Farhoosh, R., & Hoseini-Yazdi, S. Z. 2013b. Evolution of Oxidative Values during Kinetic Studies on Olive Oil Oxidation in the Rancimat Test. *Journal of the American Oil Chemists' Society*.
- Firestone, D. 1993. Worldwide Regulation of frying fats and oils. *Inform*, 4, 1366-1371.
- Frankel, E. N. 1998. Lipid oxidation. Dundee: *The Oily Press Ltd.*
- Guillen, M. D., & Cabo, N. (2002). Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chemistry*, 77, 503-510.
- Kmiecik, D., Korczak, J., Rudzinska, M., Gramza-Michalowska, A., & Hes, M. 2009. Stabilization of phytosterols in rapeseed oil by natural antioxidants during heating. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 1124-1132.
- Lacoste, F., & Lagardere, L. 2003. Quality parameters evolution during biodiesel oxidation using Rancimat test. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105, 149-155.
- Machado, E. R., Marmesat, R., Abrantes, S., & Dobarganes, C. 2007. Uncontrolled variables in frying studies: differences in repeatability between thermoxidation and frying experiments. *Grasas Y Aceites*, 58, 283-288.
- Melton, S.L., Jafar, S., Sykes, D., and Trigiano, M.K. 1994. Review of stability measurements for frying oils and fried food flavor. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71, 1301-1308.
- Reynhout, G. 1991. The effect of temperature on the induction time of a stabilized oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68, 983-984.
- Sa´nchez-Muniz, F. J., Cuesta, C., & Garrido-Polonio, C. 1993. Sunflower Oil Used for Frying: Combination of Column, Gas and High-Performance Size-Exclusion Chromatography for Its Evaluation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70, 235-240.
- Shantha, N. C., & Decker, E. A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of the AOAC International*, 77, 421-424.
- Soupas, L., Juntunen, L., Saynajoki, S., Lampi, A., & Piironen, V. 2004. GC-MS method for characterization and quantification of sitostanol oxidation products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81, 135-141.
- Tyagi, V. K., & Vasishtha, A. K. 1996. Changes in the characteristics and composition of oils during deep- fat frying. *Journal of the American Oil chemists' Society*, 73, 499-506.
- Tan, C. P., Che Man, Y.B., Selamat, J. b., & Yusoff, M. S. A. 2002. Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. *Food Chemistry*, 76, 385-389.
- Wong, M. L., Timms, R. E., & Goh, E. M. 1988. Colorimetric determination of total tocopherols in palm oil, olein and stearin. *Journal of the American Oil chemists' Society*, 65, 258-261.

Evaluation of oxidative stability of frying olive oil during thermal and frying processes

F. Habibi Nodeh¹, R. Farhoosh², A. Sharif³

Received: 2018.07.27

Accepted: 2019.01.15

Introduction: Frying is one of the oldest and popular preparation techniques broadly used at home and food industry. High temperatures plus the presence of air as well as the water from the food being fried cause many destructive reactions. Therefore, thermal stability and performance of oil during frying is considered as one of the important criteria in the selection of frying oil. In this regard, balanced chemical composition, presents it as a valuable option for frying purposes. Studies show lipid autoxidation considered as the most important deteriorative reaction in the olive oil. This reaction leads to the formation of a series of primary and secondary oxidation products. Hydroperoxides are the primary oxidation products of lipid oxidation. Carbonyl value (CV) does measure secondary decomposition products are more stable than peroxides and the CV seems to be a good index of oxidative changes in lipids. Therefore, the determination of carbonyl compounds in frying oils is very important for evaluating the quality of frying fats and oils. Several studies have been carried out on the oxidative stability of edible oil during frying. Rancimat test has also been considered among the accelerated methods of lipid oxidation measurement due to ease of use and reproducibility. However, although estimate of oxidative stability of edible oil according to accelerated methods, is used widely but there is always worries about accordance the results of such tests with the results found under real frying conditions and Presence of food. Therefore, necessity of simultaneous study oxidative stability is essential in order to justify and extension of result together during heating and frying.

Materials and methods: Six refined olive oil samples of different brands in 1 lit glass bottles were purchased from local shops and were stored at 4 °C for further analysis. Fatty acid methyl ester (FAME) standards, and all chemicals and solvents used in this study were of analytical reagent grade and supplied by Merck and Sigma Chemical Companies. The ratio between monounsaturated and polyunsaturated fatty acids (M/P) was determined by gas-liquid chromatography. The spectrophotometric method was used to determine the PV. The AV was determined according to the AOCS. The TT content was determined according to the colorimetric method. The TP content was determined spectrophotometrically using Folin-Ciocalteu's reagent. The CV of the oils was measured using 2-propanol and 2,4-decadienal as solvent and standard, respectively. A Metrohm Rancimat model 743 (Herisau, Switzerland) was used to measure the OSI and IP_{CV} of olive oil samples. Frying process was performed in bench- top deep- fryer at 180°C. ANOVA and regression analyses were performed according to the MATLAB and Excel software. Significant differences between means were determined by Duncan's multiple range tests.

Results and discussion: There was good correlation between the OSI and induction period (IP_{CV}) at the temperature range studied with a high determination coefficient ($R^2 > 0.99$) in the Rancimat test. Generally, the results of the present study showed that the Rancimat method at 110 °C correlated well with stability under frying condition and this correlation decreased as temperature increased in the Rancimat test. These observations can be explained by the fact that steps or pathway of chemical reactions that take place at low and high temperatures are different. Thus, choosing the right levels of operational parameters in the Rancimat method can produce the least possible difference between frying and the OSI test.

Keywords: Frying, olive oil, oxidative stability, Rancimat.

1, 2 And 3. PhD student, Professor and Associate Professor, Department of food science and technology, Faculty of agriculture, Ferdowsi university of Mashhad
(*- Corresponding Author Email: rfarhoosh@um.ac.ir)

بررسی مقدار اسیدهای آلی، ویژگی‌های میکروبی و حسی ماست نوشیدنی پروبیوتیک حاوی

گلوکز اکسیداز تثبیت شده بر روی نانوذرات مغناطیسی کیتوزان

مریم عین علی افجه¹ - رضوان پوراحمد^{2*} - بهروز اکبری آدرگانی³ - مهرداد آذین⁴

تاریخ دریافت: 1397/06/01

تاریخ پذیرش: 1397/08/19

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثر افزودن گلوکز اکسیداز تثبیت شده بر روی نانوذرات مغناطیسی کیتوزان بر مقدار اسیدهای آلی (اسید لاکتیک و اسید استیک)، زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و ویژگی‌های حسی ماست نوشیدنی پروبیوتیک بود. مقادیر مختلف (صفر، 250، 500، 750 و 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم) گلوکز اکسیداز آزاد و تثبیت شده در ماست نوشیدنی پروبیوتیک استفاده شد. نمونه‌ها به مدت سه هفته در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری شدند. طی زمان نگهداری مقدار اسید استیک، جمعیت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ولی مقدار اسید لاکتیک افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). افزودن آنزیم باعث افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های تست در مقایسه با نمونه شاهد (فاقد آنزیم) شد. زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه‌های حاوی سطوح بالای آنزیم (750 و 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم) کمتر از سایر سطوح بود. نمونه‌های حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم آزاد و تثبیت شده بالاترین تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس ($7/88 \log \text{CFU/mL}$) را داشتند و مقدار اسید استیک در این نمونه‌ها بیشتر بود (به ترتیب 0/82 و 0/87 g/L). تفاوت معنی‌داری در ویژگی‌های حسی نمونه‌ها مشاهده نشد. بنابراین افزودن گلوکز اکسیداز تثبیت شده بر روی نانو ذرات مغناطیسی کیتوزان می‌تواند با کاهش فشار اکسیداتیو شرایط مطلوب‌تری را برای بقای باکتری‌های پروبیوتیک در ماست نوشیدنی پدید آورد و پذیرش کلی حسی محصول را حفظ نماید ضمن اینکه از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه است.

واژه‌های کلیدی: کیتوزان، گلوکز اکسیداز تثبیت شده، ماست نوشیدنی پروبیوتیک، نانوذرات مغناطیسی

مقدمه

محصولات لبنی شامل گونه‌های جنس لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم می‌باشند (Hussain *et al.*, 2009). فشار اکسیژن برای متابولیسم و زنده‌مانی گونه‌های بیفیدوباکتریوم، به دلیل متابولیسم غیرهوازی آنها مضر می‌باشد. تحمل باکتری‌ها در مقابل این فشار به حضور بعضی آنزیم‌ها همچنین تغییرات مورفولوژی و ترکیباتی در سطح سلول‌ها مربوط است (Ruiz *et al.*, 2011). برخی محققین تغییرات در آگریزی سطح و افزایش در مقدار پروتئین در حضور افزایش غلظت اکسیژن را در بیفیدوباکتریوم لاکتیس مشاهده نمودند (Shakirova *et al.*, 2010). شرایط هوازی موجب کاهش تولید اگزوپلی‌ساکاریدها در برخی گونه‌های بیفیدوباکتریوم از جمله بیفیدوباکتریوم لانگوم می‌شود (Ninomiya *et al.*, 2009). به‌منظور به حداقل رساندن فشار اکسیداتیو در فرآوری ماست پروبیوتیک، پیشنهاداتی مطرح شده است از جمله اینکه افزودن نیتروژن در طی فرآوری ماست هم‌زمان با افزودن کشت‌ها و متعاقب آن تخمیر در 37 درجه سلسیوس می‌تواند در کاهش مقدار اکسیژن محلول در محصول موثر باشد (Horiuchi *et al.*, 2009). همچنین افزودن ترکیباتی به‌منظور به حداقل رساندن

امروزه مصرف فرآورده‌های پروبیوتیک در کشورهای جهان افزایش چشمگیری یافته است و اغلب فرآورده‌های پروبیوتیک موجود در بازار را فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک تشکیل می‌دهند (Mohammadi *et al.*, 2012). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که پس از مصرف در روده استقرار یافته و از طریق بهبود فلور میکروبی روده، اثرات مفیدی بر سلامتی انسان به‌جا می‌گذارند. رایج‌ترین باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده در

1 و 2- به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
3- دانشیار، مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران.
4- دانشیار، پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران.
* نویسنده مسئول (Email: rezvanpourahmad@iauvaramin.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i2.73767

نمود (Ravi Kumar *et al.*, 2000). تاکنون تحقیقی در خصوص تثبیت گلوکز اکسیداز بر روی نانوذرات مغناطیسی و کاربرد آنزیم تثبیت شده در محصولات غذایی صورت نگرفته است. هدف این تحقیق، بررسی اثر گلوکز اکسیداز تثبیت شده روی نانوذرات مغناطیسی کیتوزان بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، مقدار اسیدهای آلی و ویژگی‌های حسی ماست نوشیدنی پروبیوتیک بوده است.

مواد و روش‌ها

تثبیت آنزیم

نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 طبق روش Ghadi و همکاران (2015) تهیه شد. 0/02 گرم از نانوذرات مغناطیسی در 50 میلی‌لیتر آب دیونیزه حل گردید سپس 50 میلی‌لیتر محلول تری سدیم سترات اضافه شد. محلول به‌دست آمده به‌وسیله سونیکاتور به مدت 20 دقیقه همگن شد. 0/3 گرم کیتوزان با وزن مولکولی متوسط و درجه دی استیلاسیون 85% در 100 میلی‌لیتر محلول اسید استیک حل گردید و سپس در 1000 rpm به مدت 25 دقیقه در دمای 20 درجه سلسیوس هم‌زده شد. محلول حاصله همگن شد و pH تا 5 به‌وسیله افزودن اسید کلریدریک یا هیدروکسید سدیم تنظیم گردید و سپس فیلتر شد (مش 0/2 میکرون). پوشش‌دهی کیتوزان بر روی نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن بر اساس روش Ghadi و همکاران (2015) انجام گردید. تثبیت آنزیم بر اساس روش Liu و همکاران (2012) همراه با برخی تغییرات صورت گرفت. 480 میکرولیتر گلوکار آل‌دئید (25 v/v%) به 50 میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده افزوده شد و 2 میلی‌لیتر محلول نانوذرات مغناطیسی کیتوزان تحت شرایط هم‌زدن شدید اضافه گردید. اضافی گلوکار آل‌دئید با 5 بار شستن با استفاده از سانتریفوژ (10,000 ×g، 20 دقیقه) خارج شد. بعد از هر بار شستشو میزان جذب در 235 و 280 نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر، برای گلوکار آل‌دئید خوانده شد. محلول در یخ قرار داده شد و 1 میلی‌گرم گلوکز اکسیداز (1/25 Iu/g) در 10 میلی‌لیتر بافر فسفات در pH 7 حل و در یخ قرار داده شد. تحت شرایط هم‌زدن ثابت و 1000 دور در دقیقه، محلول گلوکار آل‌دئید - نانو ذرات مغناطیسی کیتوزان به محلول آنزیم به‌صورت قطره قطره در طول یک دقیقه اضافه گردید.

بررسی مورفولوژی آنزیم تثبیت شده

برای مطالعه مورفولوژی آنزیم گلوکز اکسیداز بعد از تثبیت، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM-edax-map) (TESCAN MIRA II, cZECH) استفاده شد. بر روی جامونه‌ای چسب کربنی و یک تکه فویل آلومینیومی قرار داده شد. به‌منظور آماده‌سازی، نمونه با اتانول با خلوص بالا رقیق شد. بعد از 10 دقیقه سونیکیت شدن 1

فشار اکسیژن ناشی از اکسیژن محلول مانند اسید آسکوربیک (Dave and Shah, 1997, 1998)، استفاده از پلی‌استایرن لایه لایه جهت مانعیت از نفوذ گازها (Miller *et al.*, 2003) و ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک (Talwalkar *et al.*, 2004) روش‌های به حداقل رساندن فشار اکسیژن بودند.

علاوه بر این اضافه کردن گلوکز اکسیداز به‌عنوان یک راهکار تکنولوژیکی به‌منظور افزایش قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک مطرح شده است. گلوکز اکسیداز آنزیمی است که باعث کاتالیز اکسیداسیون بتا- دی گلوکز به مولکول دلتا- گلوکونولاکتون توسط مولکول اکسیژن می‌شود که متعاقب آن باعث هیدرولیز خودبه‌خودی آن به اسید گلوکونیک و پراکسید هیدروژن می‌گردد (Hetch *et al.*, 1993). برخی محققین اثر افزودن غلظت‌های مختلف گلوکز اکسیداز را بر ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی و میکروبیولوژی ماست پروبیوتیک بررسی کردند. در نمونه‌های ماست حاوی گلوکز اکسیداز آزاد، افزایش کمتر اکسیژن محلول، همراه با کاهش کمتر بیفیدوباکتریوم لانگوم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مشاهده شد (Cruz *et al.*, 2012).

تثبیت آنزیم‌ها بر روی بسترهای مختلف با اهداف زیادی صورت می‌گیرد که مهمترین آنها عبارتند از: افزایش پایداری حرارتی آنزیم، افزایش پایداری ساختاری در صورت تماس با محلول‌های آلی، تسهیل در فرآیند جداسازی آنزیم پس از انجام آزمایش، کاهش آلودگی‌های ناشی از آنزیم در محصولات، افزایش سازگاری آنزیم در شرایط زیستی، افزایش فعالیت و راندمان تولید محصول (Sheldon, 2007). تحقیقاتی جهت تثبیت گلوکز اکسیداز بر روی بسترهای آلی و معدنی مختلف توسط برخی محققین صورت گرفته است (Blandino *et al.*, 2001; Vikartovská *et al.*, 2007). پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که نانو ذرات مغناطیسی می‌توانند جایگزین بسیار مناسبی برای بسترهای آلی و معدنی در تثبیت آنزیم‌ها باشند. از مزایای این جایگزینی می‌توان به موارد زیر اشاره نمود (Kim *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2011):

- 1- امکان جمع‌آوری ساده، سریع و کم هزینه آنزیم از بافت پیچیده با استفاده از یک میدان مغناطیسی خارجی.
- 2- ظرفیت بالای بارگذاری آنزیم به‌دلیل سطح ویژه زیاد نانو ذرات.
- 3- نداشتن محدودیت نفوذ در محلول‌ها و متعاقب آن عدم ایجاد محدودیت در فعالیت آنزیم.

کیتوزان خواص فیزیکی و شیمیایی قابل توجهی دارد که از جمله می‌توان به زیست تخریب پذیر بودن و فعالیت‌های زیستی (فعالیت‌های ضد میکروبی، هموستاتیک و ضد تومور) اشاره نمود (Denkbas *et al.*, 2002; Tang *et al.*, 2010). علاوه بر این کیتوزان از لحاظ اقتصادی نیز بسیار مورد توجه است. کیتوزان دارای کاربردهای متعددی است که از جمله می‌توان به تثبیت آنزیم اشاره

درجه سلسیوس در 5000 دور بر دقیقه سانتریفوژ گردید. مایع رویی قبل از آنالیز کروماتوگرافی با غشاء پلی کربنات 0/45 میکرومتر صاف شد. اسیدهای آلی در 0/6 mL/min در دمای 65 سلسیوس جدا شدند (Donkor et al., 2005; Serra et al., 2009).

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی توسط 10 نفر ارزیاب آموزش دیده با استفاده از روش هدونیک 5 نقطه‌ای صورت پذیرفت. پارامترهای طعم، بافت و پذیرش کلی ارزیابی شدند (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1387).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارها با سه تکرار بررسی شدند. از آنالیز واریانس و آزمون دانکن در سطح اطمینان 95% برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد. نرم افزار SPSS 22 استفاده گردید.

نتایج و بحث

مورفولوژی آنزیم تثبیت شده

مورفولوژی سطح نانو ذرات مغناطیسی کیتوزان بعد از تثبیت گلوکز اکسیداز به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده گردید (شکل 1). در این شکل مورفولوژی ذرات و توپوگرافی یکنواخت سطح ذرات به وضوح نشان داده شده است. براین اساس گلوکز اکسیداز به شکل یکنواخت بر روی سطح نانو ذرات مغناطیسی توزیع شده است. نتایج این بررسی در مقایسه با تصاویر میکروسکوپی پیش از تثبیت آنزیم، حاکی از تثبیت موفقیت آمیز آنزیم بر روی نانو ذرات مغناطیسی کیتوزان می‌باشد. نتایج این تحقیق با یافته‌های Kaushik و همکاران (2008) مطابقت دارد.

زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

با توجه به جدول 1 مشخص گردید که در روز اول نگهداری کمترین شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس متعلق به نمونه شاهد و FE₂₅₀ (نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد) بود (به ترتیب 7/8 و 7/94 logCFU/mL). (نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم تثبیت شده) IE₅₀₀ (نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم تثبیت شده) و IE₇₅₀ (نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم تثبیت شده) بیشترین جمعیت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را داشتند (به ترتیب 8/4 log CFU/mL و 8/37 و 8/36). در روز 11ام نگهداری کمترین شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس متعلق به نمونه شاهد بود

میلی‌لیتر از نمونه روی فویل آلومینیومی قرار داده شد و بعد از خشک شدن، داخل دستگاه sputter coater پوشش طلا ایجاد شد. اتصال الکتریکی بین نمونه و جانمونه‌ای ایجاد گردید.

تولید ماست نوشیدنی پروبیوتیک

ماست نوشیدنی با اقتباس از روش Robinson و Tamime (2007) تولید شد. شیر 1/5% چربی استفاده گردید. شیر خشک بدون چربی (2/5% وزنی - حجمی) به شیر اضافه شد. شیر در دمای 85 درجه سلسیوس به مدت 15 دقیقه پاستوریزه گردید سپس تا دمای 40 درجه سلسیوس خنک شد. در این دما استارتر DVS پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس Ls5 و بیفیدوباکتریوم لاکتیس BB12) تلقیح گردید. باکتری‌های پروبیوتیک (هرکدام به تعداد 10⁸ CFU/mL) همزمان با استارتر DVS ماست (YC-X11) اضافه شدند. گرمخانه‌گذاری در دمای 40 درجه سلسیوس تا رسیدن به pH 4/6 صورت گرفت. سپس محصول تا دمای 10 درجه سلسیوس خنک گردید و ژل با همزدن به مدت 10 دقیقه شکسته شد. گلوکز اکسیداز در طی همزدن اضافه شد به دلیل این که همزدن به‌عنوان آخرین مرحله در فرآیند تولید ماست اکسیژن زیادی را وارد می‌نماید. مقادیر مختلف (صفر، 250، 500، 750 و 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم) گلوکز اکسیداز آزاد و تثبیت شده در ماست نوشیدنی پروبیوتیک استفاده شد. در واقع تیمارها شامل 8 تیمار تست (4 تیمار حاوی مقادیر فوق الذکر آنزیم آزاد به علاوه 4 تیمار حاوی مقادیر مذکور آنزیم تثبیت شده) و یک تیمار شاهد (فاقد آنزیم) بودند. نمونه‌های ماست نوشیدنی در ظروف پلی‌پروپیلن به حجم 100 میلی‌لیتر بسته‌بندی و به مدت 21 روز در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری گردیدند. نمونه‌ها از نظر شمارش باکتری‌های پروبیوتیک، مقادیر اسید لاکتیک و اسید استیک، و ویژگی‌های حسی بررسی شدند.

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

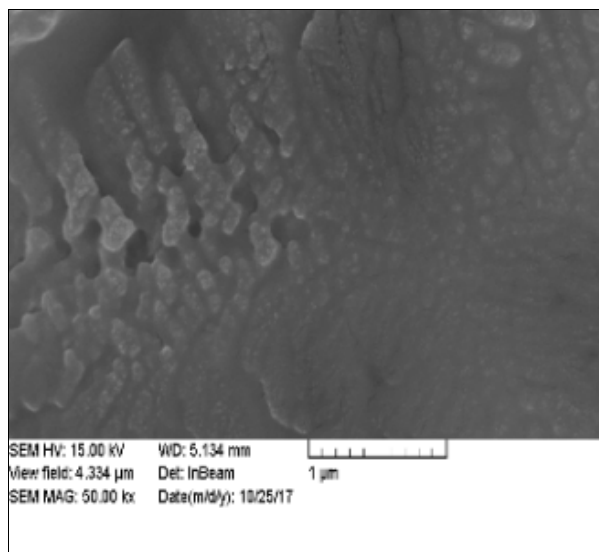
برای شمارش باکتری‌های پروبیوتیک محیط کشت اختصاصی MRS-bile agar استفاده شد. گرمخانه‌گذاری در دمای 37 درجه سلسیوس و مدت زمان 72 ساعت در شرایط هوازی و بی‌هوازی صورت گرفت (Sabooni et al., 2018).

اندازه‌گیری اسیدهای آلی

اسید لاکتیک و اسید استیک با استفاده از HPLC (HPLC P680, Dionex, Sunnyvale, CA, USA) اندازه‌گیری شدند. ستون مورد استفاده Aminex HPX-87H (7-8 mm × 300) بود. اسید سولفوریک رقیق (0/005 mol/L) به‌عنوان فاز متحرک با جریان ثابت (0/6 mL/min) استفاده شد. 5 گرم از ماست به 35 mL اسید سولفوریک 0/005 mol/L اضافه شد و به مدت 10 دقیقه در 4

بیشترین تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را به خود اختصاص داد (8/33 log CFU/mL). با افزایش زمان نگهداری، تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0/05$).

بیشترین شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را داشت (8/40 log CFU/mL). در روز 21 م نگهداری کمترین شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس متعلق به نمونه شاهد و FE₂₅₀ بود (به ترتیب 5/95 و 6/11 log CFU/mL و IE₁₀₀₀).



شکل 1- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی برای گلوکز اکسیداز تثبیت شده بر نانو ذرات مغناطیسی کیتوزان

جدول 1- تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (log CFU/mL) در نمونه‌های ماست نوشیدنی طی نگهداری

تیمار	روز 1	روز 11	روز 21
Control	7/80±0/08 ^{Ac}	6/97±0/09 ^{Bh}	5/95±0/15 ^{Cd}
FE ₂₅₀	7/94±0/08 ^{Abc}	7/40±0/09 ^{Bg}	6/11±0/08 ^{Ccd}
FE ₅₀₀	8/04±0/07 ^{Ab}	8/05±0/08 ^{Ac}	7/68±0/09 ^{Bb}
FE ₇₅₀	8/00±0/08 ^{Ab}	7/94±0/09 ^{Ae}	6/24±0/08 ^{Cc}
FE ₁₀₀₀	8/05±0/12 ^{Ab}	7/97±0/05 ^{Ad}	6/29±0/10 ^{Cc}
IE ₂₅₀	8/02±0/11 ^{Ab}	7/61±0/07 ^{Bf}	6/28±0/07 ^{Cc}
IE ₅₀₀	8/37±0/08 ^{Aa}	8/35±0/07 ^{Ab}	7/95±0/08 ^{Bb}
IE ₇₅₀	8/36±0/10 ^{Aa}	8/35±0/09 ^{Ab}	7/98±0/10 ^{Bb}
IE ₁₀₀₀	8/40±0/07 ^{Aa}	8/40±0/08 ^{Aa}	8/33±0/50 ^{Ba}

* حروف بزرگ غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطر است ($p \leq 0/05$)، حروف کوچک غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($p \leq 0/05$).
 FE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₇₅₀: نمونه حاوی 700 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، IE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₇₅₀: نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، Control: شاهد (بدون آنزیم).

(7/88 logCFU/mL). در روز یازدهم، کمترین شمارش بیفیدوباکتریوم لاکتیس مربوط به نمونه شاهد بود (6/90 logCFU/mL) و IE₅₀₀، FE₅₀₀ و IE₇₅₀ بیشترین جمعیت

با توجه به جدول 2 مشخص گردید که در روز اول، کمترین تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس مربوط به نمونه شاهد بود (7/50 logCFU/mL) و IE₅₀₀ و FE₅₀₀ بیشترین شمارش را داشتند

و FE_{500} بود ($7/70 \log CFU/mL$). تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس طی دوره نگهداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p \leq 0/05$).

باکتری را داشتند ($7/72 \log CFU/mL$). در روز بیست و یکم، کمترین تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه شاهد مشاهده شد ($6/21 \log CFU/mL$) و بیشترین تعداد این باکتری مربوط به IE_{500}

جدول 2- تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس ($\log CFU/mL$) در نمونه‌های ماست نوشیدنی طی نگهداری

تیما	روز 1	روز 11	روز 21
Control	$7/50 \pm 0/07^{gA}$	$6/90 \pm 0/08^{fB}$	$6/21 \pm 0/09^{hC}$
FE250	$7/70 \pm 0/08^{cA}$	$7/61 \pm 0/09^{bA}$	$7/45 \pm 0/07^{cB}$
FE500	$7/88 \pm 0/05^{aA}$	$7/72 \pm 0/07^{aB}$	$7/70 \pm 0/09^{aC}$
FE750	$7/63 \pm 0/08^{dA}$	$7/61 \pm 0/11^{bA}$	$6/52 \pm 0/08^{eB}$
FE1000	$7/41 \pm 0/12^{hA}$	$7/22 \pm 0/09^{cA}$	$6/51 \pm 0/07^{fB}$
IE250	$7/51 \pm 0/10^{fA}$	$6/93 \pm 0/10^{eB}$	$6/21 \pm 0/07^{gB}$
IE500	$7/87 \pm 0/11^{aA}$	$7/72 \pm 0/11^{aB}$	$7/70 \pm 0/10^{aB}$
IE750	$7/79 \pm 0/09^{bA}$	$7/72 \pm 0/07^{aA}$	$7/69 \pm 0/09^{bB}$
IE1000	$7/52 \pm 0/09^{cA}$	$7/11 \pm 0/08^{dB}$	$6/64 \pm 0/19^{dC}$

* حروف بزرگ غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطر است ($p \leq 0/05$)، حروف کوچک غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($p \leq 0/05$). FE_{250} : نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE_{500} : نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE_{750} : نمونه حاوی 700 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE_{1000} : نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، IE_{250} : نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE_{500} : نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE_{750} : نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE_{1000} : نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، Control: شاهد (بدون آنزیم).

داشت که در نتیجه شرایط مطلوب‌تری را برای توسعه میکروارگانیزم‌های پروبیوتیک پدید آورد که ذاتاً غیرهوازی یا میکروآئروفیل هستند.

اسیدهای آلی

با توجه به جدول 3 مشخص گردید که در روز اول نگهداری کمترین مقدار اسیدلاکتیک متعلق به نمونه‌های FE_{500} (نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد) و FE_{1000} (نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد) بود (به ترتیب 8/19 و 8/29 g/L). FE_{750} (نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد) بیشترین مقدار اسیدلاکتیک را داشت (8/49 g/L). در روز 11م نگهداری کمترین اسیدلاکتیک مربوط به IE_{250} (نمونه حاوی 250 آنزیم تثبیت شده) و FE_{500} بود (به ترتیب 8/28 و 8/32 g/L). نمونه شاهد و FE_{1000} بیشترین اسیدلاکتیک را داشتند (به ترتیب 9/10 و 9/12 g/L). در روز 21م نگهداری کمترین مقدار اسیدلاکتیک متعلق به IE_{750} (نمونه حاوی 750 آنزیم تثبیت شده) بود (8/92 g/L). نمونه شاهد، FE_{1000} و FE_{750} بیشترین مقدار اسیدلاکتیک را داشتند (به ترتیب 9/14، 9/16 و 9/13 g/L). طی زمان نگهداری، مقدار اسیدلاکتیک در نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p \leq 0/05$).

نتایج این تحقیق نشان داد افزودن گلوکز اکسیداز اثر مثبتی در کاهش اکسیژن محلول و افزایش زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در ماست نوشیدنی پروبیوتیک دارد که با تحقیقات پیشین مطابقت دارد (Cruz et al., 2012). افزودن گلوکز اکسیداز یک روش زیست فناوری است و می‌تواند مورد قبول صنایع غذایی مدرن باشد که نظر منفی نسبت به استفاده از مواد شیمیایی در مواد غذایی دارند (Behrens et al., 2010; Cruz et al., 2012; Shim et al., 2011).

به نظر می‌رسد بالاتر بودن زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در نمونه‌های با سطوح کم و متوسط آنزیم تثبیت شده (IE_{250} , IE_{500}) نسبت به آنزیم آزاد به دلیل افزایش فعالیت آنزیم تثبیت شده در pH ماست باشد. در غلظت‌های بالاتر (IE_{750} , IE_{1000}) اثر کیتوزان محسوس‌تر خواهد بود چرا که سوبسترای لازم برای فعالیت آنزیم محدود بوده و به‌نظر می‌رسد در غلظت‌های بالاتر کیتوزان نقش سینرژیستی با آنزیم داشته است. کیتوزان به‌عنوان پری‌بیوتیک قادر است سبب تحریک رشد باکتری‌های پروبیوتیک شود (ارباب سلیمانی و همکاران، 1395).

افزودن گلوکز اکسیداز تثبیت شده بر روی نانو ذرات مغناطیسی کیتوزان اثر مثبت بیشتری در کاهش فشار اکسیداتیو در ماست نوشیدنی پروبیوتیک نسبت به نمونه شاهد و نمونه‌های با آنزیم آزاد

جدول 3- مقادیر اسید لاکتیک (g/L) در نمونه‌های ماست نوشیدنی طی نگهداری

تیما	روز 1	روز 11	روز 21
Control	8/32±0/02 ^{Cb}	9/10±0/02 ^{Ba}	9/14±0/01 ^{Aa}
FE ₂₅₀	8/29±0/03 ^{Cb}	8/87±0/02 ^{Bc}	9/09±0/02 ^{Ab}
FE ₅₀₀	8/19±0/02 ^{Cd}	8/32±0/02 ^{Bf}	8/98±0/03 ^{Ad}
FE ₇₅₀	8/49±0/03 ^{Ca}	8/97±0/02 ^{Bb}	9/13±0/02 ^{Aa}
FE ₁₀₀₀	8/22±0/03 ^{Bcd}	9/12±0/01 ^{Ba}	9/16±0/01 ^{Aa}
IE ₂₅₀	8/24±0/00 ^{Cc}	8/28±0/13 ^{Bf}	9/05±0/00 ^{Ac}
IE ₅₀₀	8/29±0/01 ^{Cb}	8/47±0/01 ^{Be}	9/04±0/02 ^{Ac}
IE ₇₅₀	8/31±0/01 ^{Cb}	8/49±0/01 ^{Be}	8/92±0/01 ^{Ae}
IE ₁₀₀₀	8/29±0/00 ^{Cb}	8/59±0/02 ^{Bd}	9/04±0/00 ^{Ac}

* حروف بزرگ غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطر است ($p \leq 0/05$)، حروف کوچک غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($p \leq 0/05$).
 FE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₇₅₀: نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، IE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₇₅₀: نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، Control: شاهد (بدون آنزیم).

اسید استیک را به‌خود اختصاص داد (به ترتیب 0/77 و 0/76 g/L) که با نمونه شاهد و IE₂₅₀ اختلاف معنی‌دار داشت ($p \leq 0/05$). طی زمان نگهداری، مقدار اسید استیک در نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p \leq 0/05$).

در نمونه‌های دارای تعداد بالاتر بیفیدوباکتریوم لاکتیس، یعنی نمونه‌های تهیه شده با غلظت‌های 500 و 750 میلی‌گرم آنزیم تثبیت شده (IE₅₀₀ و IE₇₅₀) و نیز غلظت 500 میلی‌گرم آنزیم آزاد (FE₅₀₀) مقدار استیک اسید بیشتر بود. نتایج تحقیق حاضر مطابق با یافته‌های محققین دیگر می‌باشد که گزارش نمودند مقادیر بالای استیک اسید در ماست عموماً از طریق مسیر هتروفرماتاتیو لاکتوز، توسط گونه‌های بیفیدوباکتریوم ایجاد می‌شود (Venica et al., 2014). برخی محققان نیز افزایش مشخص در مقدار اسید استیک را در شیرهای تخمیری و ماست با افزودن باکتری‌های پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، بیفیدوباکتریوم لانگوم و بیفیدوباکتریوم ایفانتیس) گزارش کردند (La Torre et al., 2003). عده‌ای از محققین نیز سطوح قابل قیاس اسید استیک در ماست سنتی و ماست تهیه شده با افزودن بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیرگونه لاکتیس BB12 را طی دوره نگهداری نشان دادند (Settachaimongkon et al., 2014).

ویژگی‌های حسی

طبق جدول 5، نمونه‌های تست و شاهد از نظر طعم تفاوت معنی‌داری نداشتند. طی زمان نگهداری، امتیاز طعم کلیه نمونه‌ها (تست و شاهد) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p \leq 0/05$).

اسید لاکتیک نقش ویژه‌ای در ویژگی‌های عطر و طعم و رایحه ماست ایفا می‌کند. در طی تولید ماست حدود 20-40% لاکتوز موجود در شیر به اسید لاکتیک تبدیل می‌شود و مقدار اسید لاکتیک حدود 0/9% است. در طول نگهداری کاهش غلظت لاکتوز، با افزایش غلظت اسید لاکتیک همراه است. زمانی که شیر تا 14% ماده خشک استاندارد می‌شود ماست بعد از تخمیر حاوی 5-4 گرم لاکتوز در 100 میلی‌لیتر است (Tamime and Robinson, 2007). برخی محققان اثر افزودن گلوکز اکسیداز را در ماست پروبیوتیک بررسی و افزایش اسیدهای چرب چند غیراشباعی و مقادیر مشابه اسید لاکتیک را گزارش کردند (Batista et al., 2015).

با توجه به جدول 4 مشخص گردید که در روز اول نگهداری کمترین مقدار اسید استیک متعلق به IE₂₅₀ (نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم تثبیت شده) بود (0/71 g/L) و IE₅₀₀ (نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم تثبیت شده) بیشترین مقدار اسید استیک را داشت (0/87 g/L). در روز 11م نگهداری کمترین مقدار اسید استیک متعلق به تیمار شاهد بود (0/65 g/L) که با IE₅₀₀، FE₂₅₀، FE₅₀₀ و IE₇₅₀ اختلاف معنی‌دار داشت ($p \leq 0/05$). تیمار IE₅₀₀ بیشترین مقدار اسید استیک را به‌خود اختصاص داد (0/91 g/L) که با نمونه شاهد، IE₂₅₀ و FE₇₅₀ اختلاف معنی‌دار داشت ($p \leq 0/05$). در روز 21م نگهداری کمترین مقدار اسید استیک متعلق به تیمار شاهد و IE₂₅₀ بود (به ترتیب 0/53 و 0/54 g/L) که با IE₅₀₀ و IE₇₅₀ اختلاف معنی‌دار داشت ($p \leq 0/05$). IE₇₅₀ (نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم تثبیت شده) و IE₅₀₀ (نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم تثبیت شده) بیشترین مقدار

نتایج ارزیابی حسی پارامتر بافت در جدول 6 نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های تست و شاهد از نظر پارامتر حسی بافت مشاهده نشد. با افزایش زمان ماندگاری از روز اول تا 21

ام نگهداری، میانگین امتیازات بافت کلیه نمونه‌ها (تست و شاهد) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p \leq 0/05$).

جدول 4- مقادیر اسید استیک (g/L) در نمونه‌های ماست نوشیدنی طی نگهداری

تیمار	روز 1	روز 11	روز 21
Control	0/75±0/06 ^{abA}	0/65±0/06 ^{cB}	0/53±0/06 ^{bC}
FE ₂₅₀	0/79±0/07 ^{abA}	0/83±0/10 ^{abA}	0/66±0/06 ^{abB}
FE ₅₀₀	0/82±0/09 ^{abA}	0/89±0/04 ^{abA}	0/62±0/11 ^{abB}
FE ₇₅₀	0/74±0/06 ^{abA}	0/75±0/06 ^{bcA}	0/65±0/13 ^{abB}
FE ₁₀₀₀	0/77±0/07 ^{abA}	0/79±0/10 ^{abcA}	0/63±0/04 ^{abB}
IE ₂₅₀	0/71±0/05 ^{bA}	0/75±0/08 ^{bcA}	0/54±0/04 ^{bB}
IE ₅₀₀	0/87±0/08 ^{aA}	0/91±0/06 ^{aA}	0/76±0/06 ^{aB}
IE ₇₅₀	0/84±0/10 ^{abA}	0/84±0/10 ^{abA}	0/77±0/06 ^{aB}
IE ₁₀₀₀	0/73±0/07 ^{abA}	0/77±0/07 ^{abcA}	0/63±0/07 ^{abB}

* حروف بزرگ غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطر است ($p \leq 0/05$)، حروف کوچک غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($p \leq 0/05$).
 FE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₇₅₀: نمونه حاوی 700 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، IE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₇₅₀: نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، Control: شاهد (بدون آنزیم).

جدول 5- امتیاز طعم نمونه‌های ماست نوشیدنی طی نگهداری

تیمار	روز 1	روز 11	روز 21
Control	4/50±1/08 ^{aA}	3/70±1/05 ^{aB}	3/50±1/35 ^{aC}
FE ₂₅₀	4/30±1/16 ^{aA}	3/50±1/08 ^{aB}	3/30±1/33 ^{aC}
FE ₅₀₀	4/10±0/73 ^{aA}	3/30±1/16 ^{aB}	3/30±1/05 ^{aB}
FE ₇₅₀	4/00±1/15 ^{aA}	3/30±1/16 ^{aB}	3/30±0/82 ^{aB}
FE ₁₀₀₀	3/90±1/10 ^{aA}	3/20±1/03 ^{aB}	3/10±1/19 ^{aC}
IE ₂₅₀	4/10±1/28 ^{aA}	3/30±1/05 ^{aB}	3/30±1/16 ^{aB}
IE ₅₀₀	4/00±1/63 ^{aA}	3/50±1/17 ^{aB}	3/40±1/07 ^{aC}
IE ₇₅₀	3/80±0/91 ^{aA}	3/40±0/84 ^{aB}	3/30±0/67 ^{aC}
IE ₁₀₀₀	3/80±0/91 ^{aA}	3/20±1/47 ^{aB}	3/10±1/10 ^{aC}

* حروف بزرگ غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطر است ($p \leq 0/05$)، حروف کوچک غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($p \leq 0/05$).
 FE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₇₅₀: نمونه حاوی 700 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، IE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₇₅₀: نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، Control: شاهد (بدون آنزیم).

معنی‌داری کاهش یافت ($p \leq 0/05$). نتایج نشان داد که افزودن گلوکز اکسیداز بر پذیرش کلی حسی ماست نوشیدنی پروبیوتیک اثری نداشت که مطابق با تحقیقات پیشین بود (Cruz et al., 2011). به

مطابق با جدول 7، تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های تست و شاهد از نظر پذیرش کلی مشاهده نشد. با افزایش زمان نگهداری از روز اول تا روز 21 ام، امتیاز پذیرش کلی کلیه نمونه‌ها (تست و شاهد) به‌طور

کیفیت حسی آنها داشته باشد (Cruz *et al.*, 2010). یافته‌های برخی محققین این مسئله را تایید کرد که کیفیت حسی ماست‌های پروبیوتیک/ پری‌بیوتیک مشابه و یا حتی بهتر از انواع معمولی آنهاست (Allgeyer *et al.*, 2010; Gonzalez-Gonzalez *et al.*, 2011)

عبارتی ماست حاوی گلوکز اکسیداز آزاد و تثبیت شده بر روی نانوذرات مغناطیسی کیتوزان مقبولیت پایین‌تری از نظر ویژگی‌های حسی نسبت به نمونه شاهد نشان نداد. شایان ذکر است که افزودن کشت‌های پروبیوتیک به مواد غذایی مانند ماست، نباید اثر منفی بر

جدول 6- امتیاز بافت نمونه‌های ماست نوشیدنی طی نگهداری

تیمار	روز 1	روز 11	روز 21
Control	4/80±0/63 ^{aA}	4/50±0/85 ^{aB}	3/80±1/61 ^{aC}
FE ₂₅₀	4/60±0/84 ^{aA}	4/60±0/69 ^{aA}	3/80±1/93 ^{aB}
FE ₅₀₀	4/50±1/26 ^{aA}	4/60±1/26 ^{aB}	3/80±1/75 ^{aC}
FE ₇₅₀	4/70±0/94 ^{aA}	4/60±0/84 ^{aA}	3/80±1/47 ^{aB}
FE ₁₀₀₀	4/70±0/67 ^{aA}	4/50±1/08 ^{aB}	3/80±1/54 ^{aC}
IE ₂₅₀	4/60±0/84 ^{aA}	4/60±1/26 ^{aA}	3/90±0/99 ^{aB}
IE ₅₀₀	4/70±0/67 ^{aA}	4/50±1/26 ^{aB}	3/90±0/87 ^{aC}
IE ₇₅₀	4/50±0/85 ^{aA}	4/60±0/96 ^{aA}	3/90±0/99 ^{aB}
IE ₁₀₀₀	4/50±0/70 ^{aA}	4/60±0/69 ^{aA}	3/90±1/37 ^{aB}

* حروف بزرگ غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطر است ($p \leq 0/05$)، حروف کوچک غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($p \leq 0/05$).
 FE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₇₅₀: نمونه حاوی 700 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، IE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₇₅₀: نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، Control: شاهد (بدون آنزیم).

جدول 7- امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های ماست نوشیدنی طی نگهداری

تیمار	روز 1	روز 11	روز 21
C	4/00±1/05 ^{aA}	3/90±1/44 ^{aB}	3/80±1/61 ^{aC}
FE ₂₅₀	4/20±1/31 ^{aA}	3/80±1/31 ^{aB}	3/30±1/41 ^{aC}
FE ₅₀₀	4/00±1/33 ^{aA}	3/60±1/17 ^{aB}	3/60±1/83 ^{aB}
FE ₇₅₀	3/80±1/13 ^{aA}	3/50±1/05 ^{aB}	3/30±1/05 ^{aC}
FE ₁₀₀₀	3/70±0/94 ^{aA}	3/50±1/26 ^{aB}	3/60±1/50 ^{aC}
IE ₂₅₀	4/20±1/13 ^{aA}	3/80±0/91 ^{aB}	3/40±1/17 ^{aC}
IE ₅₀₀	4/00±0/66 ^{aA}	4/00±0/81 ^{aA}	3/40±1/35 ^{aB}
IE ₇₅₀	3/90±0/99 ^{aA}	3/60±0/84 ^{aB}	3/60±1/17 ^{aB}
IE ₁₀₀₀	3/90±0/99 ^{aA}	3/60±1/07 ^{aB}	3/40±1/07 ^{aC}

* حروف بزرگ غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطر است ($p \leq 0/05$)، حروف کوچک غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($p \leq 0/05$).
 FE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₇₅₀: نمونه حاوی 700 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، FE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز آزاد، IE₂₅₀: نمونه حاوی 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₅₀₀: نمونه حاوی 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₇₅₀: نمونه حاوی 750 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، IE₁₀₀₀: نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم گلوکز اکسیداز تثبیت شده، Control: شاهد (بدون آنزیم).

نتیجه‌گیری

می‌آورد بدون آنکه مقبولیت حسی محصول را کاهش دهد. این روش (افزودن آنزیم تثبیت شده) می‌تواند در ماست نوشیدنی پروبیوتیک کاربردی باشد زیرا بازیابی آنزیم سریع و آسان است ضمن اینکه این روش ایمن بوده و از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه می‌باشد.

می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از گلوکز اکسیداز تثبیت شده بر روی نانوذرات مغناطیسی کیتوزان با کاهش فشار اکسیداتیو ناشی از اکسیژن محلول شرایط مطلوب‌تری را برای توسعه میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در ماست نوشیدنی پروبیوتیک پدید

منابع

- ارباب سلیمانی، ن.، کسری کرمانشاهی، ر.، یخچالی، ب.، 1395. تأثیر پری‌بیوتیک کیتوزان بر رشد و خاصیت ضد میکروبی لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیکی. *مجله میکروبی‌شناسی پزشکی ایران*، 10، 35-43.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1387، روش‌های آزمون حسی، استاندارد ملی ایران شماره 3442.
- Allgeyer, L.C., Miller, M.J., Lee, S.Y., 2010, Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal of Dairy Science*, 93, 4471-4479.
- Batista, A.L.D., Silva, R., Cappato, L.P. Almada, C.N., Garcia, R.K.A., Silva, M.C., Raices, R.S.L., Arellano, D.B., SantAna, A.S., Conte Junior, C.A., Freitas, M.Q., Cruz, A.G., 2015, Quality parameters of probiotic yogurt added of glucose oxidase compared to commercial products through microbiological, physical-chemical and metabolic activity analysis. *Food Research International Journal*, 77(3), 627-635
- Behrens, J. H., Barcellos, M. N., Frewer, L. J., Nunes, T. P., G. M. Franco, B. D., Destro, M. T., Landgraf, M., 2010, Consumer purchase habits and views on food safety: A Brazilian study. *Food Control*, 21, 963-969.
- Blandino A., Macias M., Cantero D., 2001, Immobilization of glucose oxidase within calcium alginate gel capsules. *Process Biochemistry*, 36, 601- 606.
- Cruz, A. G., Faria , J. A. F., Walter, E. H. M., Andrade, R. R., Cavalcanti, R. N., Oliveira, C. A. F., Granato, D., 2010, Optimization of the processing of probiotic yoghurt added with glucose oxidase using the response surface methodology. *Journal of Dairy Science*, 93, 1058-1069.
- Cruz, A. G., Faria , J. A. F., Faria, G. A. F., Oliveira, C. A. F., Cavalcanti, R. N., Bona, E., Bolini, H. A. M., Silva, M. A. A. P. D., 2011, Consumer acceptability and purchase intent of probiotic yogurt added glucose oxidase using sensometrics, artificial neural networks and logistic regression. *International Journal of Dairy Technology*, 64(4), 549- 556.
- Cruz , A. G., Castro, W. F., Faria , J. A. F., Lollo, P. C. B., Amaya-Farfán , J., Freitas , M. Q., Rodrigues, D., Oliveira, C. A. F., Godoy, H. T., 2012, Probiotic yogurts manufactured with increased glucose oxidase levels: Postacidification, proteolytic patterns, survival of probiotic microorganisms, production of organic acid and aroma compounds. *Journal of Dairy Science*, 95, 2261-2269
- Dave, R. I., Shah, N.P., 1997, Effectiveness of acid ascorbic as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yogurts made with commercial starters cultures. *International Dairy Journal*, 7, 435-443.
- Dave, R. I., Shah, N.P., 1998, Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *Journal of Dairy Science*, 81, 2804-2816.
- Denkbas. E. B., Kilicay, Birlikseven, C., Ozturk, E., 2002, *Reactive and Functional Polymers*, 50, 225-232.
- Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N. P., 2005, Probiotic strains as starter cultures improve angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in soy yogurt. *Journal of Food Science*, 70, M375-M381.
- Ghadi, A., Tabandeh, F., Mahjoub, S., Mohsenifar, A., Talebnia Roshan, F., Shafiee Alavije, R., 2015, Fabrication and characterization of core- shell magnetic chitosan nanoparticles as a novel carrier for immobilization of Burkholderia cepacia lipase. *Journal of oleo Science*, 64 (4), 423- 430.
- Gonzalez-Gonzalez, C.R., Tuohy, K.M., Jauregi, P., 2011, Production of angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity in milk fermented with probiotic strains: Effects of calcium, pH and peptides on the ACEinhibitory activity. *International Dairy Journal*, 21, 615-622.
- Hetch, H. J., Kalisz, H. M., Hendle, J., Schmid, R. D., 1993, Crystal structure of glucose oxidase from *Aspergillus niger* refined at 2.3 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, 229, 153- 172.
- Horiuchi, H., Inoue, N., Liu, E., Fukui, M., Sasaki, Y., Sasaki, T., 2009, A method for manufacturing superior set yogurt under reduced oxygen conditions. *Journal of Dairy Science*, 92(9), 4112-4121.
- Hussain, I., Rahman, A.U., Atkinson, N., 2009, Quality comparison of probiotic and natural yogurt. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8, 9-12.
- Kaushik, A., Khan, R., Solanki, P.R., Pandey, P., Alam, J., Ahmad, S., Malhotra, B.D., 2008, Iron oxide nanoparticles-chitosan composite based glucose biosensor. *Biosens Bioelectron*, 24, 676-683.

- Kim, J., Grate, J.W., Wang, P., 2006, Nanostructures for enzyme stabilization. *Chemical Engineering Journal*, 61, 1017-26.
- La Torre, L., Tamime, A.Y., Muir, D.D., 2003, Rheology and sensory profiling of set-type fermented milks made with different commercial probiotic and yoghurt starter cultures. *International Journal of Dairy Technology*, 56, 163-170
- Liu, X., Lei, L., Li, Y., Zhu, H., Cui, Y., Hu, H., 2011, Preparation of carriers based on magnetic nanoparticles grafted polymer and immobilization for lipase. *Biochemical Engineering Journal*, 56, 142-49.
- Liu, L.H., Zhao, G., He, B., Chen, L., Huang, L., 2012, Immobilization of pectinase and lipase on macroporous resin coated with chitosan for treatment of whitewater from papermaking. *Bioresource Technology*, 123, 616-619.
- Miller, C. W., Nguyen, M. H., Rooney, M., Kailasapathy, K., 2003, the control of dissolved oxygen content in probiotic yoghurts by alternative packaging materials. *Packaging Technology and Science*, 16, 61-67.
- Mohammadi, R., Sohrabvandi, S. and Mortazavian, A.M., 2012, the starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milk. *Engineering in Life Sciences*, 12 (4), 399-409.
- Ninomiya, K., Matsuda, K., Kawahata, T., Kanaya, T., Kohno, M., Katakura, Y., Asada, M., Shioya, S., 2009, Effect of the CO₂ concentration on the growth and exopolysaccharide production of *Bifidobacterium longum* cultured under aerobic conditions. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 5, 535-537.
- Ravi Kumar, M.N.V., 2000, A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46(1), 1-27.
- Ruiz, L., Ruas-Madiedo, P., Guemonde, M., Reyes-Gavilan, C.G., Margolles, A., Sanchez, B., 2011, How do bifidobacteria counteract environmental challenges? Mechanisms involved and physiological consequences. *Genes and Nutrition*, 6, 307-318.
- Sabooni, P., Pourahmad, R., Mahdavi Adeli, H.R., 2018, Improvement of Viability of Probiotic Bacteria, Organoleptic Qualities and Physical Characteristics in Kefir Using Transglutaminase and Xanthan. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 17(2), 141-148.
- Settachaimongkon, S., Nout, R.M.J., Antunes Fernandes, E.C., van Hooijdonk, T.C.M., Zwietering, M.H., Smid, E.J., van Valenberg, H.J.F., 2014, The impact of selected strains of probiotic bacteria on metabolite formation in set yoghurt. *International Dairy Journal*, 38, 1-10
- Serra, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., Ferragut, V., 2009, Flavour profiles and survival of starter cultures of yoghurt produced from high-pressure homogenized milk. *International Dairy Journal*, 19(2), 100-106.
- Shakirova, L., L. Auzina, P. Zikmanis, M. Gavare, and M. Grube., 2010, Influence of growth conditions on hydrophobicity of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* cells and characteristics by FT-IR spectra. *Spectroscopy International Journal*, 24, 251-255.
- Sheldon, R.A., 2007, Enzyme immobilization: the quest for optimum performance. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 349(8-9), 1289-307.
- Shim, S.M., Seo, S.H., Lee, Y., Gui-Im, M, Min-Shik, K., Park, J.H., 2011, Consumers' knowledge and safety perceptions of food additives: Evaluation on the effectiveness of transmitting information on preservatives. *Food Control*, 22, 1054-1060.
- Talwalkar, A., Kailasapathy, K., 2004, Comparison of selective and differential media for the accurate enumeration of strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus casei* complex from commercial yogurts. *International Dairy Journal*, 14, 143-149.
- Tamime, A.Y., Robinson, R.K., 2007, *Yoghurt science and technology*, CRC Press, Boca Raton, pp.13-161.
- Tang, H., Zhang, P., Kieft, T., Ryon, S., Baker, S., Wiesman, W., Rogelji, S., 2010, Antibacterial action of an oval functionalized chitosan arginine against gram-negative bacteria. *Acta Biomaterialia*, 6, 2562- 2571.
- Venica, C., Perotti, M., Bergamini, C., 2014, Organic acids profiles in lactose- hydrolyzed yogurt with different matrix composition. *Dairy Science and Technology*, 94, 561-580.
- Vikartovská, D., Pätöprsty, V., Lacík, I., Gemeiner, P., 2007, Improvement of the stability of glucose oxidase via encapsulation in sodium alginate- cellulose sulfate- poly (methylene- co- guanidine) capsules. *Enzyme Microb Technology*, 41, 748-755.

Investigation of the organic acids, microbial and sensory properties of probiotic drinking yogurt containing glucose oxidase immobilized on magnetic chitosan nanoparticles

M. Ein Ali Afjeh¹, R. Pourahmad^{2*}, B. Akbari Adergani³, M. Azin⁴

Received: 2018.08.22

Accepted: 2018.11.19

Introduction: The aim of this study was to investigate the effect of immobilized glucose oxidase on magnetic chitosan nanoparticles on the content of organic acids (lactic acid and acetic acid), viability of probiotic bacteria and sensory properties of probiotic drinking yogurt.

Materials and methods: Different concentrations (0, 250, 500, 750 and 1000 mg/kg) of free and immobilized glucose oxidase were used in probiotic drinking yogurt. The samples were stored at 4°C for three weeks.

Results and discussion: During storage, the content of acetic acid, counts of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* decreased and the content of lactic acid increased significantly ($p < 0.05$). Addition of enzyme increased the viability of probiotic bacteria in test samples as compared to control sample (without enzyme). The viability of *Bifidobacterium lactis* in the samples containing high levels of enzyme (750 and 1000 mg/kg) was higher than other levels. The samples containing 500 mg/kg of free and immobilized enzyme had the highest count of *Bifidobacterium lactis* (7.88 log CFU/mL) and the amount of acetic acid in these samples (0.82 and 0.87 g/L, respectively) was more than other samples. There was no significant difference between the samples in regards to sensory properties. Therefore, addition of glucose oxidase immobilized on magnetic chitosan nanoparticles can decrease oxidative pressure and create suitable condition for the viability of probiotic bacteria in drinking yogurt and maintain overall acceptability. Moreover, it is economically feasible.

Keywords: Chitosan, Immobilized glucose oxidase, Magnetic nanoparticles, Probiotic drinking yogurt

1 and 2. Ph.D. Student and Associate Professor respectively, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

3. Associate Professor, Food and Drug Laboratory Research Center, Food and Drug Administration, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran.

4. Associate Professor, Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran

(*Corresponding author's Email: rezvanpourahmad@iau.varamin.ac.ir)

بررسی اثرات ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی اکسید روی و اثرات سینرژیستی با بیوسایدیهای مختلف بر علیه باسیلوس سرئوس

زهره دیدار*

تاریخ دریافت: 1397/03/06

تاریخ پذیرش: 1397/08/10

چکیده

در این تحقیق، سنتز نانوذرات ترکیبی منگنز- اکسید روی، آهن- اکسید روی به روش رسوب همزمان و بررسی ویژگی‌های ساختاری و مورفولوژیکی نانوذرات حاصله با استفاده از طیف مادون قرمز فوریه، پراش اشعه X و میکروسکوپ الکترونی عبوری صورت گرفت. بررسی‌ها نشان داد که عمل ترکیب عناصر منگنز و آهن توسط روش رسوب همزمان بر روی نانوذرات اکسید روی به خوبی توسط روش رسوب همزمان صورت می‌گیرد. به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی مورد نظر، از روش قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظت بازدارندگی در برابر باکتری باسیلوس سرئوس (PTCC 1665) استفاده شد. نتایج آزمون‌های اثرات ضد میکروبی نشان داد که نانوذرات ترکیبی منگنز- اکسید روی اثرات ضد میکروبی بیشتری بر روی باسیلوس سرئوس نسبت به آهن- اکسید روی دارد و ایجاد قطر هاله عدم رشد برابر با 32 میلی‌متری ایجاد می‌کند در حالی که آهن- اکسید روی، قطر هاله عدم رشد 12 میلی‌متر است. بعلاوه هر دو نانوذره ترکیبی اثرات ضد میکروبی بیشتری نسبت به نانوذرات اکسید روی به تنهایی ایجاد می‌کنند و در نتیجه عمل ترکیب این عناصر در ساختار اکسید روی سبب بهبود خاصیت ضد میکروبی آن می‌گردد. در مقایسه اثرات سینرژیست نانوذرات ترکیبی با دو ماده ضد میکروبی متداول شامل پراکسید هیدروژن و هیپوکلریت سدیم مشخص گردید که هر دو این نانوذرات با این ترکیبات ضد میکروبی اثر هم‌افزایی و سینرژیست دارند (به خصوص در غلظت های بالا).

واژه‌های کلیدی: نانوذرات ترکیبی، اکسید روی، سینرژیست، باسیلوس سرئوس

مقدمه

امروزه، علم نانو تکنولوژی در حال گسترش است و کاربردهای وسیعی در علوم مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی پیدا نموده است (Fernandez-Garcia *et al.*, 2004) یک دسته از نانوذرات، اکسیدهای فلزی هستند که اندازه ذراتی بین 1 تا 100 نانومتر را شامل می‌شوند. نانوذرات اکسیدهای فلزی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی منحصر به فردی دارند. از این دسته از نانوذرات به عنوان کاتالیزور، سنسورها و سلول‌های سوختی استفاده می‌شود (Cort *et al.*, 2013). علاوه بر این، نانوذرات اکسید فلزی به عنوان ترکیبات ضد میکروب نیز کاربرد دارد (Tran *et al.*, 2010) و در این زمینه بسیار مورد توجه محققین مختلف قرار گرفته است. بیماری‌های عفونی یکی از مهمترین عوامل مرگ و میر در جهان هستند و افزایش مقاومت میکروب‌ها به ترکیبات ضد میکروبی متداول نیز یکی از معضلات مهم در حوزه بهداشت و سلامت است. ظهور گونه‌های مقاوم به ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به

تمرکز محققان بر روی استفاده از ترکیبات ضد میکروبی نوین شده است. نانوذرات اکسیدهای فلزی اثرات ضد میکروبی در برابر دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها نشان داده است. این امر منجر به راهی برای تولید ترکیبات ضد میکروبی نوین در صنعت مواد غذایی و سایر صنایع شده است. در دسترس بودن نانوذرات اکسیدهای فلزی و دامنه وسیع ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و عملگرایی این ترکیبات را به عنوان ترکیبات مناسب و جایگزین برای ترکیبات ضد میکروبی متداول نموده است. نانوذرات اکسیدهای فلزی خصوصیات ضد میکروبی بهتری نسبت به انواع متداول ترکیبات ضد میکروبی نشان می‌دهند که دلایل آن شامل نسبت زیاد سطح به حجم این ترکیبات است (Whitesides., 2005). دسته وسیعی از نانوذرات اکسید فلزی از نظر خصوصیات ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. (نانوذرات آلومینیوم در برابر اشرشیاکلی (Ansari *et al.*, 2014) نانوذرات اکسید قلع در برابر باسیلوس سوبتلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی (Baek *et al.*, 2011) نانوذرات بیسموت در برابر سودوموناس آئرئوزنوزا، آسیتوباکتر

باسیلوس سرئوس نشان داده‌اند. در این تحقیق اثرات ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی منگنز و آهن با اکسید روی ر روی باسیلوس سرئوس مورد مطالعه قرار گرفته است. به منظور بررسی اثرات سینرژیستی نانوذرات ترکیبی، دو بیوساید متداول شامل آب اکسیژنه و هیپوکلریت سدیم به کار گرفته شده است.

مواد و روش‌ها

تمام مواد شیمیایی مصرفی مربوط به شرکت Merck آلمان است. نانوذره اکسید روی با اندازه ذرات کمتر از 100 نانومتر از شرکت Sigma-Aldrich تهیه شد.

تهیه نانوذرات ترکیبی به روش رسوب همزمان

به منظور تهیه نانوذرات ترکیبی منگنز-اکسید روی و آهن-اکسید روی از روش رسوب همزمان استفاده شد. در این روش برای تهیه نانوذرات منگنز-اکسید روی از سولفات منگنز و سولفات روی و به منظور تهیه نانوذرات آهن-اکسید روی از سولفات آهن و سولفات روی استفاده شد. پس از تهیه محلول‌های سولفات مورد نظر، محلول‌های سولفات تهیه شده با یکدیگر مخلوط شده و در دستگاه اولتراسونیک با فرکانس 57kHz برای مدت 2 ساعت در دمای 50 °C قرار داده شد. سپس در دمای 80 درجه سانتی‌گراد، همراه با همزدن قرار گرفت. محلول هیدروکسید سدیم، قطره قطره به آن افزوده شد تا زمانی که pH محلول به 12 برسد. در این شرایط، همزدن به مدت 30 دقیقه ادامه پیدا کرد. محلول حاصل، به مدت 18 ساعت در دمای محیط قرار داده شد. سپس عمل سانتریفوژ به منظور جدا کردن رسوبات انجام گردید. خالص‌سازی توسط شستشو با آب مقطر و اتانول انجام شد. رسوبات حاصل در داخل آون خلأ خشک شد. بدین ترتیب نانوذرات ترکیبی منگنز-اکسید روی و آهن-اکسید روی حاصل گردید (Mukhta et al., 2012).

تعیین خصوصیات نانوذرات ترکیبی

طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) توسط دستگاه Perkin-Elmer مدل Spectroma2 و با استفاده از قرص پتاسیم بروماید خشک در دامنه فرکانس 4000-4500 cm⁻¹ ثبت شد. همچنین پراش پرتو X با استفاده از دستگاه Phillips PW1820 از 2° تا 80° آزمایش شد.

تعیین اندازه ذرات و ویژگی‌های نانوذرات توسط

میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

شکل‌گیری و اندازه ذرات نانوذرات تولیدی توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری HITACHI مدل H-7500 با قراردادن یک قطره از

باتومانی و اشرفی‌کلی (Jassim et al., 2015) نانوذرات اکسید کلسیم، اشرفی‌کلی (Bayanduri et al., 2010) نانوذرات اکسید کلسیم در برابر لاکتوباسیلوس پلاتناروم و استافیلوکوکوس اپیدرمیس، کاندیدا تروپیکالیس. نانوذرات مس در برابر باسیلوس آتتراسیس و اشرفی‌کلی نانوذرات آهن در برابر اشرفی‌کلی، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، نانوذرات اکسید نیکل، سزیم، تیتانیوم، کروم، کبالت (Raghunath, Perumal., 2017) در میان نانوذرات اکسید فلزی، نانوذرات اکسید روی دامنه وسیع اثرات ضد میکروبی را نشان داده است و در برابر میکروارگانیزم‌های مختلف اثرات ضد میکروبی در تحقیقات مختلف نشان داده است (Raghunath, Perumal., 2017). مهمترین مکانیسم پیشنهادی برای اثرات ضد میکروبی نانوذرات اکسید فلزی شامل، تخریب دیواره سلول و تخریب آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌باشد. به منظور بهبود خصوصیات فیزیکی نانوذرات اکسیدهای فلزی، عملیات آمیختن سایر عناصر به نانوذرات اکسیدهای فلزی یک روش مؤثر است. در نانوذرات اکسیدهای فلزی، این عمل با آمیختن یک عنصر با ظرفیت بیشتر نسبت به اکسید اولیه فلزی انجام می‌شود. با عمل آمیختن، خصوصیات ساختاری، الکتریکی و نوری اکسیدهای فلزی دستخوش تغییر می‌شود (Srinivasulu et al., 2017). عمل آمیختن سایر عناصر در ساختار اکسید روی به منظور افزایش کارایی آن در مطالعات مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است. از جمله آمیختن عنصر آهن (Srinivasulu et al., 2017)، آلومینیوم (Polaju et al., 2018)، نقره (Chauhan et al., 2015)، مس (Gopalakrishnan., 2012)، بیشتر این بررسی‌ها بر روی خواص الکتریکی و نوری نانوذرات اکسیدهای فلزی ترکیبی متمرکز بوده است و بررسی خواص ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی اکسیدهای فلزی کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. نانوذرات ترکیبی منگنز کلسیم با اکسید روی بر روی استافیلوکوکوس اورئوس (Hameed et al., 2013)؛ نانوذرات ترکیبی نقره و اکسید تیتانیوم در برابر اشرفی‌کلی (Gupta et al., 2013)؛ نانوذرات ترکیبی روی و اکسید مس در برابر اشرفی‌کلی و استافیلوکوکوس اورئوس (Malka et al., 2013) از جمله تحقیقات انجام شده در این زمینه است. برخی مطالعات اثرات سینرژیست نانوذرات مختلف با ترکیبات آنتی‌بیوتیک نظیر وانکومایسین، اریترومایسین و .. را نشان داده است. باسیلوس سرئوس یک باکتری گرم مثبت، هوازی اختیاری است که در محیط به صورت گسترده‌ای یافت می‌شود و توانایی جوانه‌زنی سبب شیوع این نوع باکتری در تمام مواد غذایی شده است. شیوع این باکتری بیشتر در شیر خام، گوشت و سبزیجات عامل بسیاری از بیماری‌های مرتبط با غذا معرفی شده است (Altaf et al., 2012). افزایش مقاومت باسیلوس سرئوس در گزارشات مختلف تأکید شده است (Sood et al., 2017). برخی مطالعات اثرات ضد میکروبی نانوذرات مختلف مانند نقره (Ghahfarokhi et al., 2014) و اکسید روی (Mirhosseini et al., 2015) را بر روی

قرار داشت. در این آزمایش از لوله کنترل منفی نیز استفاده شد. بدین ترتیب که از هر یک از ترکیبات نانوذرات یا بیوسایدها مقدار 1 میلی لیتر در یک لوله آزمایش ریخته و به آن 1 سی سی محیط کشت برات استریل اضافه گردید. پس از اضافه کردن محلولهای نانوذرات و بیوسایدها به لوله‌های هر سری، یک میلی لیتر از سوسپانسیون سوش میکروبی باسیلوس سرئوس (PTCC 1665) که دارای کدورت معین است، به لوله‌های 1 تا 8 اضافه شد. به این ترتیب محلول‌های نانوذرات و ترکیبات بیوساید با هم حجم خود، از سوسپانسیون باکتریایی رقیق شد و غلظت مورد نظر به دست آمد. پس از انجام مراحل فوق، درب لوله‌ها بسته شد و به مدت 24 ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری گردید. دانسیته نوری برای تمام نمونه‌ها در طول موج 595 نانومتر قبل و بعد از انکوباسیون سنجیده شد. افزایش میزان دانسیته نوری نشان‌دهنده رشد باکتری بود درحالی که عدم رشد باکتری در هر یک از نمونه‌ها شامل نانوذرات اکسید روی به تنهایی یا ترکیب با هیپوکلریت سدیم یا پراکسید هیدروژن به عنوان حداقل غلظت مهارتی هر ترکیب در نظر گرفته شد. اندیس کسر مهارتی برای هر یک از ترکیبات بدین صورت تعیین شد:

$$FIC(A) = \frac{\text{حداقل غلظت مهارتی ماده A در حالت ترکیبی}}{\text{حداقل غلظت مهارتی ماده A به تنهایی}} \quad (1)$$

$$FIC(B) = \frac{\text{حداقل غلظت مهارتی ماده B در حالت ترکیبی}}{\text{حداقل غلظت مهارتی ماده B به تنهایی}} \quad (2)$$

$$\Sigma FIC = FIC(A) + FIC(B) \quad (3)$$

اثر ترکیبی سپس بدین صورت تفسیر می‌گردد: اندیس کسر غلظت مهارتی کمتر از 0/5 نشان‌دهنده اثر سینرژیست؛ 0/5-0/75 نشان‌دهنده اثر سینرژیست جزئی؛ 1-0/75 نشان‌دهنده اثر افزایشی؛ 1-4 نشان‌دهنده بی اثر بودن و بیشتر از 4 نشان‌دهنده اثر آنتاگونیستی است (Roks et al., 1999).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمامی آزمایشات، در سه تکرار صورت گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار STATISTICA انجام شد. به منظور سهولت بررسی تیمارهای مختلف برای هر تیمار کد مشخصی تعیین شده است که در جدول 1 نشان داده شده است.

نانوذرات حل شده در متانول بر روی توری مخصوص با پوشش کربنه و خشک کردن با هوا و سپس گرفتن تصاویر میکروسکوپی با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی در 100kv انجام شد.

آماده سازی مایه تلقیح

باکتری مورد استفاده در این تحقیق شامل باکتری باسیلوس سرئوس (PTCC 1665) تهیه شده از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران است که به صورت آمپول لیوفیلیزه تهیه گردید. سپس در شرایط استریل، شکسته شده و به محیط BHI¹ منتقل گردید و برای مدت 24 ساعت در دمای 32 درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری گردید (Yolmeh et al., 2015). سلول‌های میکروبی توسط سانتریفیوژ مدل ALC4232 با دور 4000rpm جدا شدند. توسط روش مک فارلند جمعیت باکتریایی تعیین شد و رقیق‌سازی تا رسیدن به جمعیت حدود 10⁶ کلنی در هر میلی لیتر صورت گرفت.

فعالیت ضد میکروبی در محیط کشت جامد

با روش انتشار در آگار اثر ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی به تنهایی یا همراه با بیوسایدهای مورد آزمایش (پراکسید هیدروژن، هیپوکلریت سدیم) مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا 10⁶ سلول در هر میلی لیتر از باسیلوس سرئوس بر روی سطح محیط کشت محیط کشت بلاد آگار به طور جداگانه تلقیح شد. سپس غلظت‌های 5، 10، 20، 30، 50، 100 و 200 میلی گرم در لیتر از هر یک از نانوذرات ترکیبی اکسید روی بر روی سطح محیط کشت بلاد آگار تلقیح شده با باکتری باسیلوس سرئوس قرار داده شد و سپس پلیت‌ها در دمای 37 درجه سانتی‌گراد برای مدت 24 ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. هاله عدم رشد برای نشان دادن فعالیت ضدباکتری در نظر گرفته شد (Sawai et al., 2000).

تعیین اندیس کسر غلظت مهارتی برای ترکیب نانوذرات

اکسید روی و پراکسید هیدروژن یا هیپوکلریت سدیم

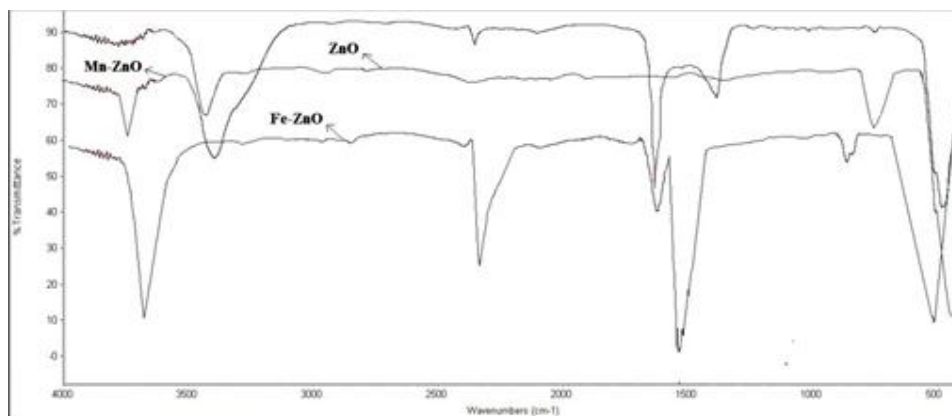
به منظور بررسی این که آیا نانوذرات ترکیبی اکسید روی با سایر ترکیبات ضد میکروبی اثر سینرژیست دارند از آزمایش تعیین اندیس کسر غلظت مهارتی استفاده شد. بدین منظور، از روش رقیق‌سازی برات استفاده شد (Kumar et al., 2004). ابتدا یک سری 8 تایی لوله حاوی محیط BHI در جالوله‌ای قرار داده و 1 میلی لیتر از هر یک از رقت‌های سریال تهیه شده از نانوذرات و ترکیبات بیوساید داخل آنها ریخته شد. بدین ترتیب که به لوله شماره 1 حداقل غلظت نانوذره و به لوله شماره 7 حداکثر غلظت نانوذرات یا بیوساید را وارد کرده و لوله شماره 8 به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد؛ بدین معنی که در این لوله فقط 1 میلی لیتر سوسپانسیون میکروبی و 1 میلی لیتر محیط برات استریل

نتایج و بحث

ویژگی‌های نانوذرات ترکیبی اکسید روی

شکل 1 طیف مادون قرمز فوریه مربوط به نانوذرات مختلف را نشان می‌دهد. پیک در طول موج $530-555\text{cm}^{-1}$ مربوط به اکسید روی است (Raja *et al.*, 2014) که در هر سه طیف قابل مشاهده است. پیک‌های دامنه $650-1500\text{cm}^{-1}$ نشان‌دهنده وجود آهن در نانوذرات آهن- اکسید روی است (Muneer *et al.*, 2013).

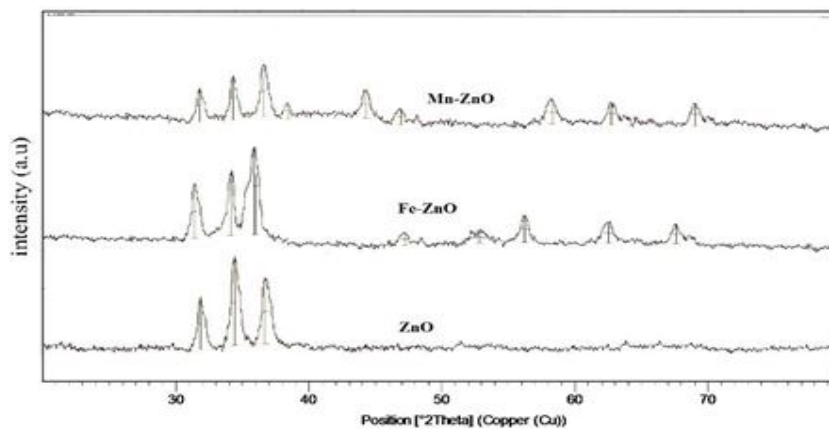
خصوص نانوذرات منگنز- اکسید روی پیک 443cm^{-1} به پیوند Zn Mn- O نسبت داده شده است (Amoupour *et al.*, 2013). سایر پیک‌های ظاهر شده در دامنه $1528-1693\text{cm}^{-1}$ ، 2348cm^{-1} و $3070-3850\text{cm}^{-1}$ نیز به ترتیب مرتبط با پیوندهای $\text{O}=\text{C}=\text{O}$ ، $\text{C}=\text{C}$ و $\text{O}=\text{H}$ است (Muneer *et al.*, 2013).



شکل 1- طیف مادون قرمز فوریه نانوذرات

می‌گردد (Amoupour *et al.*, 2013). آمیختن آهن در ساختار اکسید روی منجر به تغییر در میزان شدت پیک‌های $36/74^\circ$ و $34/47^\circ$ می‌گردد که این اثر در سایر تحقیقات نیز مشاهده شده است (Srinivasulu *et al.*, 2017).

الگوی تفرق اشعه X در نانوذرات اکسید روی، منگنز- اکسید روی و آهن اکسید روی در شکل 2 نشان داده شده است. پیک‌های پراش در $2\theta = 31/86^\circ$ ، $34/56^\circ$ ، $36/36^\circ$ متعلق به اکسید روی است (Poloju *et al.*, 2018). در اثر ترکیب عنصر منگنز به اکسید روی، از شدت این پیک‌ها کاسته شده و پیک‌های اختصاصی $38/25^\circ$ ، $44/43^\circ$ ظاهر



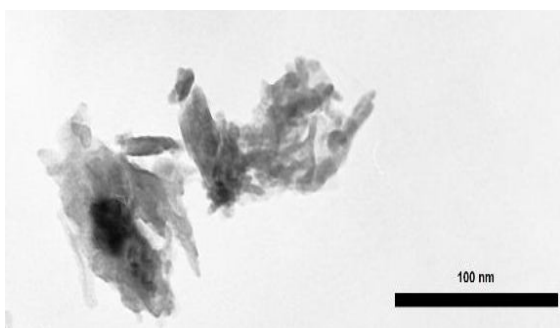
شکل 2- طیف پراش اشعه X نانوذرات

تصاویر میکروسکوپی ساختار ورتزیت را در نانوذرات نشان می‌دهد که با نتایج حاصل از پراش اشعه X همخوانی دارد. ترکیب عناصر آهن و

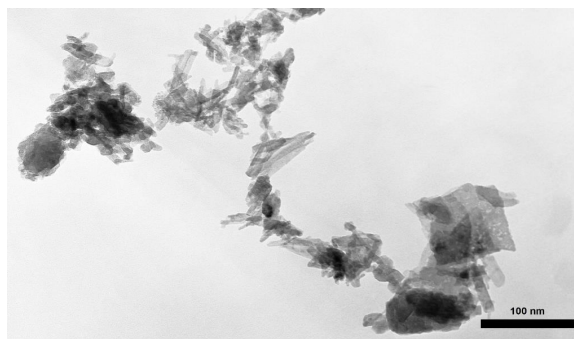
مورفولوژی نانوذرات ترکیبی منگنز- اکسید روی و آهن- اکسید روی توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی گردید (شکل 4).

نشان‌دهنده مناسب بودن روش رسوب همزمان که یک روش ساده شیمیایی است برای تهیه نانوذرات ترکیبی مورد نظر است.

منگنز نیز در تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری مشهود است (شکل 3). در مجموع نتایج بررسی‌های ساختاری نانوذرات ترکیبی



(b)



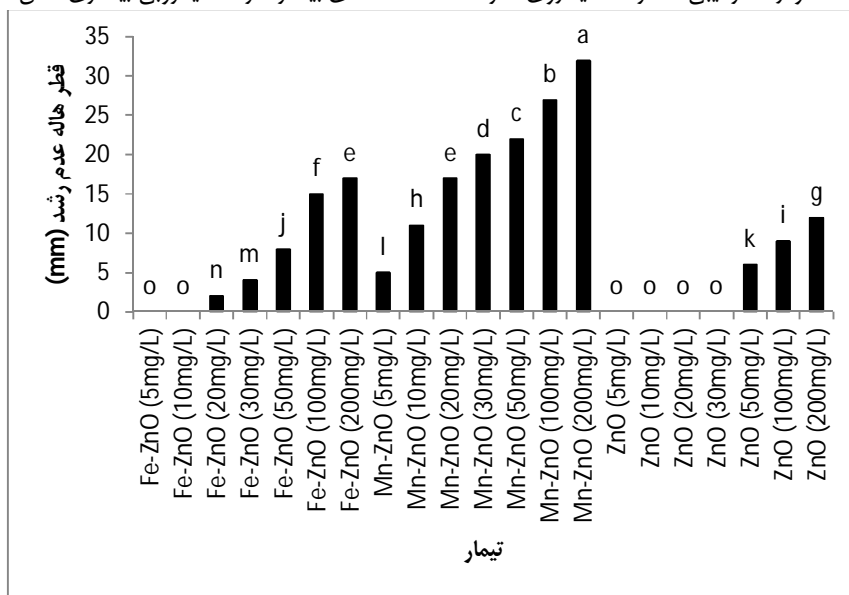
(a)

شکل 3- تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری. نانوذرات منگنز - اکسید روی (a); نانوذرات آهن - اکسید روی (b).

هاله عدم رشد بیشتری نسبت به نانوذرات آهن - اکسید روی ایجاد می‌کنند که نشان‌دهنده قدرت بیشتری ضد میکروبی منگنز - اکسید روی در برابر باسیلوس سرئوس است همچنین غلظت‌های مختلف بر روی خاصیت ضد میکروبی هر یک از نانوذرات موثر است و غلظت‌های بیشتر، اثر ضد میکروبی بیشتری نشان دادند.

اثر ضد میکروبی بر روی محیط جامد

به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی نانوذرات ترکیبی منگنز - اکسید روی و آهن - اکسید روی، قطر هاله عدم رشد باسیلوس سرئوس در غلظت‌های مختلف نانوذرات سنجیده شد (شکل 4). همانطور که در شکل 4 نشان داده شده است نانوذرات ترکیبی منگنز - اکسید روی قطر



شکل 4- قطر هاله عدم رشد (mm) باسیلوس سرئوس

(اعداد با حروف یکسان دارای تفاوت معنی داری در سطح $p < 0.01$ نیستند)

و آهن در ساختار نانوذرات اکسید روی سبب بهبود خاصیت ضد میکروبی آن در برابر باسیلوس سرئوس می‌گردد. Sharma و همکاران (2015) بهبود خاصیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی همراه با آهن را در

بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به منگنز - اکسید روی با غلظت 200mg/L است (32 میلی‌متر). نانوذرات اکسید روی به تنهایی قطر هاله عدم رشد برابر با 16 میلی‌متر را دارا می‌باشد. ترکیب عناصر منگنز

جدول ۲- حداقل غلظت بازدارندگی و کسر غلظت بازدارندگی بر روی باسیلوس سرئوس

Σ FIC	FeZnO+ NaOCl	Σ FIC	FeZnO+ H ₂ O ₂	Σ FIC	Mn ZnO+ NaOCl	بازدارندگی (درصد)	NaOCl (mg/L)	بازدارندگی (درصد)	H ₂ O ₂ (mg/L)	بازدارندگی (درصد)	FeZnO (mg/L)	بازدارندگی (درصد)	MnZnO (mg/L)	بازدارندگی (درصد)
۰/۷۵	۲۰+۳۰	۰/۷۵	۵+۳۰	۰/۶۸	۲۰+۲۰	۲۹	۲۰	۲۲	۵	۲۱	۳۰	۲۰	۲۰	
۰/۷۱	۳۰+۵۰	۰/۷۲	۱۰+۵۰	۰/۵۲	۳۰+۴۰	۶۶	۳۰	۵۵	۱۰	۵۹	۵۰	۴۵	۴۰	
۰/۶۵	۵۰+۱۰۰	۰/۶۳	۱۵+۱۰۰	۰/۴۱	۵۰+۶۰	۸۱	۵۰	۷۶	۱۵	۷۶	۱۰۰	۶۹	۶۰	
۰/۵۳	۱۰۰+۲۰۰	۰/۵۲	۲۰+۲۰۰	۰/۳۵	۱۰۰+۸۰	۹۱	۱۰۰	۹۱	۲۰	۹۱	۲۰۰	۸۵	۸۰	
						۱۰۰	۱۴۰	۱۰۰	۳۰	۱۰۰	۳۰۰	۱۰۰	۱۰۰	

برابر باسیلوس سوبتلیس، اشرشیاکلی و استافیلوکوس اورئوس را نشان دادند. آمیختن عناصر در ساختار اکسیدهای فلزی سبب بهبود خاصیت ضد میکروبی آنها می‌گردد که این اثر به تشکیل اکسیژن فعال ناشی از واکنش ترکیب و شکل‌گیری حامل‌های بار ایجاد شده بر روی نانوذرات اکسید روی و واکنش متقابل آنها با اکسیژن و مولکول‌های آب بر روی سطح ذرات است. آنالیز واریانس تیمارهای مختلف نیز تفاوت معنی‌دار بین نانوذرات اکسید روی به تنهایی، منگنز- اکسید روی و آهن- اکسید روی در سطح معنی‌داری 1% را تأیید نمود (داده‌ها نشان داده نشده است).

بررسی حداقل غلظت بازدارندگی و اثرات سینرژیستی

نانوذرات همراه با ترکیبات ضد میکروبی

حداقل بازدارندگی نانوذرات ترکیبی منگنز- اکسید روی، آهن- اکسید روی، هیدروژن پراکسید و هیپوکلریت سدیم به تنهایی و به صورت ترکیبی در غلظت‌های مختلف تعیین شد (جدول 2). مطابق این جدول، نانوذرات منگنز- اکسید روی دارای غلظت بازدارندگی کمتری نسبت به آهن- اکسید روی در برابر باسیلوس سرئوس بود. مخلوط دو ماده بیوساید با نانوذرات سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی آنها می‌شود که چنانچه مجموع کسر غلظت بازدارندگی کمتر از 0/5 باشد نشان‌دهنده اثر سینرژیستی و 0/5-0/75 نشان‌دهنده اثر سینرژیستی جزئی است. نانوذرات منگنز- اکسید روی همراه با هیدروژن پراکسید و هیپوکلریت سدیم در غلظت کم (5 +20) اثر سینرژیستی جزئی نشان داد و در سایر غلظت‌ها اثر سینرژیستی کامل داشتند. در خصوص نانوذرات آهن- اکسید روی و هیدروژن پراکسید و هیپوکلریت سدیم فقط در غلظت (100 +200) اثر سینرژیستی کامل داشت و در سایر غلظت‌ها اثر سینرژیستی به صورت جزئی بود. اثر سینرژیستی هیدروژن پراکسید و هیپوکلریت سدیم با نانوذرات نقره در برابر اشرشیاکلی توسط Dong و همکاران (2015) گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که نانوذرات ترکیبی منگنز- اکسید روی و آهن- اکسید روی دارای خاصیت ضد میکروبی در برابر باسیلوس سرئوس هستند. خاصیت ضد میکروبی این ترکیبات با افزایش غلظت آنها افزایش می‌یابد و اثر ضد میکروبی اکسید روی دارای منگنز بیشتر از اکسید روی حاوی آهن است. استفاده مخلوط نانوذرات ترکیبی منگنز یا آهن و اکسید روی با دو ماده بیوساید متداول در صنعت ماده غذایی شامل هیدروژن پراکسید و هیپوکلریت سدیم، سبب افزایش قدرت ضد میکروبی این ترکیبات نانوذره می‌گردد. غلظت‌های بیشتر از ترکیب نانوذرات و هر یک از بیوسایدهای مورد مطالعه سبب اثر سینرژیستی بیشتر آنها می‌گردد.

- Altaf, M.S., Iqbal, A., Ahmad, M., Hussain, S.A., Ahmad, R. and Willayat, M.M. (2012). Study of enterotoxigenicity of *B.cereus* emetic strain by skin vasopermeability reaction in rabbits and poultry. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 3(2):166-172.
- Amoupour, E., Ghodsi, F.E., Andarva, H., Abdolazadeh ziabari, A. 2013. Preparation and investigation of optical, structural, and morphological properties of nanostructured ZnO:Mn thin films. *Pramana Journal of physics*. 81(2): 33-341.
- Ansari MA, Khan HM, Khan AA, Cameotra SS, Saquib Q, Musarrat J. Interaction of Al₂O₃ nanoparticles with *Escherichia coli* and their cell envelope biomolecules. *J Appl Microbiol* 2014; 116:772–83.
- Baek YW, An YJ. Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb₂O₃) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*. *Sci Total Environ* 2011; 409:1603–8.
- Bayanduri Moghaddam A, et al. Comparative study of antimicrobial activities of TiO₂ and CdO nanoparticles against the pathogenic strain of *Escherichia coli*. *Iran J Pathol* 2010; 5:83–9.
- Chauhan R, Reddy A, Abraham J. Biosynthesis of silver and zinc oxide nanoparticles using *Pichia fermentans* JA2 and their antimicrobial property. 2015. *J Appl Nanosci* .5:63–71.
- Corr SA. Metal oxide nanoparticles. *Nanoscience* 2013;1:180–234.
- Dong, X., Koo, Y., Tang, Y., Yun, Y., Yang, Y. 2015. Superior Antibacterial Activity of Photochemical Synthesized Ag-CNT Composites and their Synergistic Effects in Combination with other Antimicrobial Agents. *J Nanomed Nanotechnol* 2015, 6(3): 1-7.
- Fernandez-Garcia M, Martinez-Arias A, Hanson JC, Rodriguez JA. Nanostructured oxides in chemistry: characterization and properties. *Chem Rev* 2004;104:4063–104.
- Ghahfarokhi, S.A., Naji, T., Mazdapour, M., Kazemi, A., T ajehmiri, A. 2014. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Bacillus cereus*. *International Journal of Basic Biosciences*. 2(2): 6-11.
- Gupta K, Singh RP, Pandey A, Pandey A. 2013. Photocatalytic antibacterial performance of TiO₂ and Ag-doped TiO₂ against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. *Beilstein J Nanotechnol* .4:346–51.
- Hameed ASH, Karthikeyan C, Sasikumar S, Kumar VS, Kumaresan S, Ravi G. Impact of alkaline metal ions Mg²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺ and Ba²⁺ on the structural, optical, thermal and antibacterial properties of ZnO nanoparticles prepared by the co-precipitation method. *J Mater Chem B* 2013;1:5950.
- Jassim AM, Farhan SA, Salman JA, Khalaf KJ, Al Marjani MF, Mohammed MT. Study the antibacterial effect of bismuth oxide and tellurium nanoparticles. *Int J Chem Biol Sci* 2015;1:81–4.
- Kumar KA, Mazumdar K, Dutta NK, Karak P, Dastidar SG, et al., 2004 Evaluation of synergism between the aminoglycoside antibiotic streptomycin and the cardiovascular agent amlodipine. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 27: 1116-1120.
- Malka E, Peralstein I, Lipovsky A, Shalom Y, Naparstek L, Perkas N, et al. 2013. Eradication of multi-drug resistant bacteria by a novel Zn-doped CuO nanocomposite. *Small*. 9:4069–76.
- Mirhosseini, M., Barzegari Firouzabadi, F. 2015. Reduction of *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus* in Milk by Zinc Oxide Nanoparticles. *Iranian Journal of Pathology*. 10(2): 97-104.
- Mukhtar, M., Munisa, L., Saleh, R. 2012. Co-Precipitation Synthesis and Characterization of Nanocrystalline Zinc Oxide Particles Doped with Cu²⁺ Ions. *Materials Sciences and Applications*. 3, 543-551
- Muneer M. Ba-Abbad, Abdul Amir H. Kadhun, Abu Bakar Mohamad, Mohd S. Takriff and Kamaruzzaman Sopian. 2013. The effect of process parameters on the size of ZnO nanopartic synthesized via the sol-gel technique. *Journal of Alloys and Compounds*. 8: 63-70.
- Muthukumar, S., Gopalakrishnan, R. 2012. Structural, FTIR and photoluminescence studies of Cu doped ZnO nanopowders by co-precipitation method. *Optical Materials* 34:1946–1953.
- Poloju, M., Jayababu, N., Ramana Reddy, M.V. 2018. Improved gas sensing performance of Al doped ZnO/CuO nanocomposite based ammonia gas sensor. *Materials Science & Engineering B* 227 (2018) 61–67.
- Raghunath, A., Perumal, E. 2017. Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a promise for the future. *International Journal of Antimicrobial Agents* 49: 137–152.
- Raja, K., P.S. Ramesh, D. Geetha, Structural, FTIR and photoluminescence studies of Fe doped ZnO nanopowder by co-precipitation method. 2014. *Spectrochem. Acta A – Mol. Biomol. Spectrosc.* 131: 183–188.
- Roks G, Deckers CL, Meinardi H, Dirksen R, van Egmond J, et al. 1999 Effects of polytherapy compared with monotherapy in antiepileptic drugs: an animal study. *J Pharmacol Exp Ther* 288: 472-477.
- Sawai J, Kojima H, Igarashi H, Hashimoto A, Shoji S, Sawaki T, et al. Antibacterial characteristics of magnesium oxide powder. *World J Microbiol Biotechnol*; 2000. 16(2):187-94.
- Sharma, N., Jandaik, S., Kumar, S., Chitkara, M., Singh Sandhu, I. 2015. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of manganese- and iron-doped zinc oxide nanoparticles. *Journal of Experimental Nanoscience*. 11:1, 54-71

- Sood, B., Pal Sahota, P., Hunjan, M. 2017. Multidrug Resistant *Bacillus cereus* in Fresh Vegetables: A Serious Burden to Public Health. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 6(4): 649-661.
- Srinivasulu, T., Saritha, K., Ramakrishna Reddy, K.T. 2017. Synthesis and characterization of Fe-doped ZnO thin films deposited by chemical spray pyrolysis. *Modern Electronic Materials* 3: 76-85
- Tran N, Mir A, Mallik D, Sinha A, Nayar S, Webster TJ. Bactericidal effect of iron oxide nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *Int J Nanomedicine* 2010; 5:277-83.
- Whitesides GM. Nanoscience, nanotechnology, and chemistry. *Small* 2005; 1:172-9.
- Yolmeh M, Habibi-Najafi M B, Najafzadeh M. 2015. Study the effects of ultraviolet radiation on the growth of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* isolated from raw milk and raw rice Iranian Food Science and Technology Research Journal; 4: 319-324.

Investigation of Antimicrobial and Synergistic effects of doped Zinc Oxide Nanoparticles against *Bacillus cereus*

Z. Didar¹

Received: 2016.08.22

Accepted: 2016.11.19

Introduction: Metal oxide nanoparticles have unique physical and chemical properties. These components have shown antimicrobial effects against a wide range of microorganisms. In order to improve the physical properties of metal oxide nanoparticles, doping other elements with metal oxide nanoparticles is an effective way. *Bacillus cereus* is a gram-positive bacteria causing food-borne diseases. In this study, the antimicrobial effects of doped zinc oxide nanoparticles with manganese or iron on *Bacillus cereus* have been studied. To investigate the synergistic effects of the combined nanoparticles with two common biocides, including hydrogen peroxide and sodium hypochlorite, have been used.

Materials and methods: Co-precipitation method was used to prepare nanoparticles of manganese-zinc oxide and iron-zinc oxide. In this method, zinc sulfate and manganese sulfate were used to prepare manganese-zinc oxide and iron sulfate and zinc sulfate are used for Zn- Fe doped nanoparticles. After preparing the sulfate solutions, the sulfate solutions were mixed and placed in an ultrasonic apparatus at a frequency of 57 kHz for 2 hours at 50°C. Then, it was stirred at 80°C. A solution of NaOH was added until the pH of the solution reached 12. In these conditions, the mixing was done for 30 minutes. The solution was placed at ambient temperature for 18 hours. Then the centrifuge was performed to separate the sediment. Purification was done through washing with distilled water and ethanol. The precipitates were dried in the vacuum oven. In this way, the doped nanoparticles of manganese-zinc oxide and iron-zinc oxide were obtained. The Fourier transform infrared spectrum (FTIR) was carried out by the Perkin-Elmer apparatus of the Spectroma2 model, using a dry potassium bromide tablet at a frequency range of 4500-4000 cm⁻¹. The X-ray diffraction was tested using the Phillips PW1820 from 2° to 80°. Structure of produced nanoparticles was assessed by the HITACHI electron microscope, the H-7500 model, by placing a drop of nanoparticles dissolved in methanol on a special lining with carbon coating and air drying, and performing microscopic images using an electron microscope in 100kv. The bacteria used in this study included *Bacillus cereus* (PTCC 1665) was purchased from the Iranian Scientific and Industrial Research Center and was transferred to the BHI medium in sterile condition and incubated for 32 hours at a temperature of 32°C. Microbial cells were isolated by centrifugation at 4000 rpm. McFarland's method was used for determining the bacterial population. Dilution was carried out to reach a population of about 10⁶ CFU/ml. Agar disc diffusion method was used for assessing the antimicrobial effect of the doped nanoparticles alone or in combination with tested biocides (hydrogen peroxide, sodium hypochlorite). At first, 10⁶ CFU/ml of *Bacillus cereus* were inoculated on the surface of Blood Agar. Then, 5, 10, 20, 30, 50, 100 and 200 mg/L of each of the nanoparticles were placed on the surface of the culture medium and then the plates was incubated at 37°C for 24 hours. Inhibition zone was considered as antibacterial activity. In order to investigate synergistic effects, inhibitory fraction index test was calculated. All experiments were performed in three replications. Statistical analyzes were performed using STATISTICA software.

Results and discussion: Results obtained from X-ray and FTIR analysis of doped nanoparticles confirmed that co-precipitation is a suitable method for producing doped nanoparticles of zinc oxide. TEM analysis of produced nanoparticles also affirm formation of doped nanoparticles of zinc oxide with manganese and iron. The results of antimicrobial tests showed that Mn-Zn oxide nanoparticles have more antimicrobial effects on *Bacillus cereus* than zinc oxide (32mm inhibition zone) whereas Fe- Zn oxide nanoparticles cause inhibition zone about 12 mm. In addition, both doped nanoparticles have more antimicrobial effects than zinc oxide nanoparticles alone, resulted in doping process improves antimicrobial properties of zinc oxide. The synergistic effects of synthetic nanoparticles in the combination of two common antimicrobial agents, including hydrogen peroxide and sodium hypochlorite, have been identified. Both nanoparticles show synergistic effects in combination with two tested

1. Assistant professor of food science, Neyshabur branch, Islamic azad university, Neyshabur, Iran
(*- Corresponding Author Email: zdidar57@gmail.com)

biocides (especially in high concentrations). A mixture of two biocides with nanoparticles increases their antimicrobial properties. Manganese-zinc oxide nanoparticles with hydrogen peroxide and sodium hypochlorite showed a partial synergistic effect at low concentrations (5 + 20) and a complete synergistic effect at higher concentrations. In the case of iron-zinc oxide, combination of this nanoparticle with hydrogen peroxide and sodium hypochlorite, has complete synergistic effects at high concentration (100 + 200) and at other conditions, shows partial synergistic effects.

Keywords: Doped nanoparticles, Zinc oxide, synergistic, *Bacillus cereus*

استفاده از مواد شفاف‌کننده در تصفیه شربت خام چغندری

ادریس آرژه¹ - میرخلیل پیروزی فرد^{2*} - سجاد پیرسا²

تاریخ دریافت: 1397/01/23

تاریخ پذیرش: 1397/08/10

چکیده

شربت خام به‌عنوان یک محصول حد واسط در فرآوری چغندر قند حاوی ناخالصی‌های مختلفی (مانند پروتئین، ساپونین، ترکیبات رنگی، ترکیبات فنلی، پکتین و...) است که بایستی جداسازی یا به یک سطح قابل قبول کاهش داده شوند تا شربت برای مراحل بعد آماده‌سازی گردد. در این پژوهش از چهار ماده مختلف شفاف‌کننده (بنتونیت، سیلیکا سل، ژلاتین و زغال فعال) برای حذف ناخالصی شربت خام چغندر استفاده گردید. از مقایسه بنتونیت با سیلیکا سل به‌عنوان دو ترکیب با بار سطحی منفی مشخص شد که توانایی بنتونیت در حذف ناخالصی‌های عامل فلوک (پروتئین، ساپونین و ترکیبات فنولی) و بهبود شاخص‌های تصفیه‌ای (خاکستر و درجه خلوص) به مراتب بالاتر از سیلیکا سل است. به‌طوری که تیمار بنتونیتی توانست میزان پروتئین، ترکیبات فنولی و ساپونین‌ها در شربت را به ترتیب 61، 68 و 40 درصد کاهش دهد. ترکیب ژلاتین و زغال فعال به‌عنوان شفاف‌کننده‌های مکمل با بنتونیت و سیلیکا سل هم موجب بهبود پارامترهای مورد اندازه‌گیری شد. به‌طور کلی تیمار بنتونیت- زغال فعال بهترین نتیجه را در بر داشت و به‌ترتیب موجب کاهش 73، 87 و 85 درصدی در میزان پروتئین، ترکیبات فنولی و ساپونین‌ها شد. در این پژوهش همچنین تیمارهای پیشنهاد شده با تیمار متداول (آهک-دی‌اکسید کربن) مورد مقایسه قرار گرفتند و مشخص شد که این تیمارها توانایی بهتری جهت حذف حداکثری ناخالصی‌ها دارند.

واژه‌های کلیدی: شربت خام چغندر، تصفیه شیمیایی، بنتونیت، سیلیکا سل، ژلاتین، زغال فعال

مقدمه

کربنیک به کربنات کلسیم تبدیل شده و همزمان با آن نیز از ساکارات کلسیم ساکارز آزاد می‌شود (Decloux, 2002; Asadi, 2006).

شربت خام چغندر حاوی ناخالصی‌های مختلفی است که برخی از این ناخالصی‌ها مراحل تصفیه متداول (تصفیه شربت به روش کلاسیک) را طی نموده و وارد شربت رقیق می‌شوند. این ترکیبات که اغلب محلول هستند بر راندمان کریستالیزاسیون و کیفیت شکر نهایی تاثیر نامطلوب می‌گذارند. همچنین با توجه به اینکه ناخالصی‌های مختلف با برهمکنش‌های متفاوتی حذف می‌شوند به انواع گوناگونی از ترکیبات تصفیه کننده⁶ نیاز می‌باشد. از ترکیبات شیمیایی تصفیه‌کننده (جاذب) مرسوم در صنایع غذایی می‌توان به بنتونیت، سیلیکا سل، زغال فعال و ژلاتین اشاره کرد. تصفیه شربت خام با ترکیبات شیمیایی از جمله روش‌های تصفیه شیمیایی محسوب می‌گردد که در سال‌های اخیر (بیشتر در زمینه آب میوه‌ها) مورد توجه بوده است.

بنتونیت یک ترکیب رسی متعلق به گروه مونتموریلونیت‌ها با بار سطحی منفی می‌باشد که توانایی اتصال به ناخالصی‌ها با بار مثبت مانند

شربت خام محصول فرآیند دیفوزیون خلال‌های چغندر می‌باشد که تقریباً حاوی 85 درصد آب، 16 درصد ساکارز و 2 درصد ترکیبات غیرقندی⁴ می‌باشد. درجه خلوص شربت خام 85-88 درصد می‌باشد (Asadi, 2006). بنابراین با توجه به درجه خلوص پایین، بایستی تحت فرآیند تصفیه قرار بگیرد.

یکی از دغدغه‌های اصلی تولیدکنندگان شکر طی مراحل تصفیه و رنگبری شربت خام چغندر، حذف هرچه بیشتر ناخالصی‌های غیرقندی از شربت و به‌دست آوردن شربت رقیق⁵ با درجه خلوص و کیفیت بالاتر است. امروزه در اکثر کارخانه‌های قند روش کار (تصفیه شربت به روش کلاسیک) به این صورت است که بر اساس درجه خلوص، 7-15 کیلوگرم آهک به ازای هر متر مکعب به شربت اضافه می‌کنند که نتیجه آن مواد کلوئیدی، نمک‌های غیرمحلول کلسیم، ترکیبات پکتینی و پروتئینی ته‌نشین می‌شوند. در مرحله بعد آهک اضافی در شربت به‌وسیله گاز

4 Non-sucrose

5 شربت حاصل از کربناسیون دوم و قبل از ورود به اواپراتور

6 Fining Agents

1 و 2- به ترتیب دانشجوی دکترا و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

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

DOI: 10.22067/ifstrj.v15i2.72013

اینکه فلوک‌ها برای بدن بی‌ضرر هستند، اما یک عیب ظاهری محسوب می‌شوند و مصرف‌کنندگان از پذیرش و خرید محصول خوداری می‌کنند. در حالی که هنوز مکانیسم اصلی تشکیل فلوک به‌طور کامل مشخص نشده است اما محققان ساپونین‌ها را عامل اصلی تشکیل فلوک‌ها می‌دانند (Iciek *et al.*, 2012). ساپونین‌ها، گلیکوزیدهای با وزن مولکولی بالا هستند که دارای گروه قندی متصل به آگلیکون تری‌ترین یا استروئیدی می‌باشند. برخی دیگر از محققان پروتئین و لیپیدها را هم به‌عنوان عاملی برای تشکیل فلوک معرفی کرده‌اند (Clarke *et al.*, 1999; Morton and Murray, 2001). بنابراین با توجه به ماهیت متفاوت عوامل تأثیرگذار در تشکیل فلوک، استفاده از ترکیبات شفاف‌کننده (جاذب) مختلف می‌تواند راهی مناسب برای حذف این ترکیبات از شربت باشد. در همین راستا هدف اصلی از این مطالعه بررسی تأثیر ترکیبات شفاف‌کننده مختلف (بنتونیت، سیلیکا سل، ژلاتین و زغال فعال) بر حذف ناخالصی‌های شربت خام از جمله ترکیبات فنولی، ساپونین‌ها و پروتئین‌ها به‌عنوان محرک‌های فلاک در نوشیدنی‌های اسیدی و همچنین بهبود کیفیت شربت خام چغندر می‌باشد. علاوه بر این، شربت خام با استفاده از روش آهک زنی - کربناسیون نیز تصفیه گردید تا مقایسه‌ی بین توانایی ترکیبات شفاف‌کننده مذکور با آهک امکان پذیر گردد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سطح آزمایشگاهی در کارخانه قند پیرانشهر صورت گرفت. نمونه‌گیری شربت خام (pH 6، بریکس 16/3، خاکستر 0/66 درصد، درجه خلوص 87/24 درصد، میزان پروتئین 209 میلی‌گرم بر لیتر، فنل کل 913 میلی‌گرم بر لیتر و ساپونین 71 میلی‌گرم بر لیتر) در انتهای بخش دیفوزیون کارخانه (قبل از فرآیند تصفیه) انجام گرفت. تصفیه‌کننده‌های شیمیایی (جاذب‌های شیمیایی) شامل بنتونیت (Na-Ca Bentonite ERBSLÖH, Geisenheim, Germany type-A; 100 bloom, Erbigel,) ژلاتین (Baykisol 15%)، سیلیکا سل (Germany) و زغال فعال (CS-2000, Gostar Ghoumes CO.) مورد استفاده در این تحقیق دارای درجه آزمایشگاهی بودند و از شرکت‌های معتبر تهیه شدند.

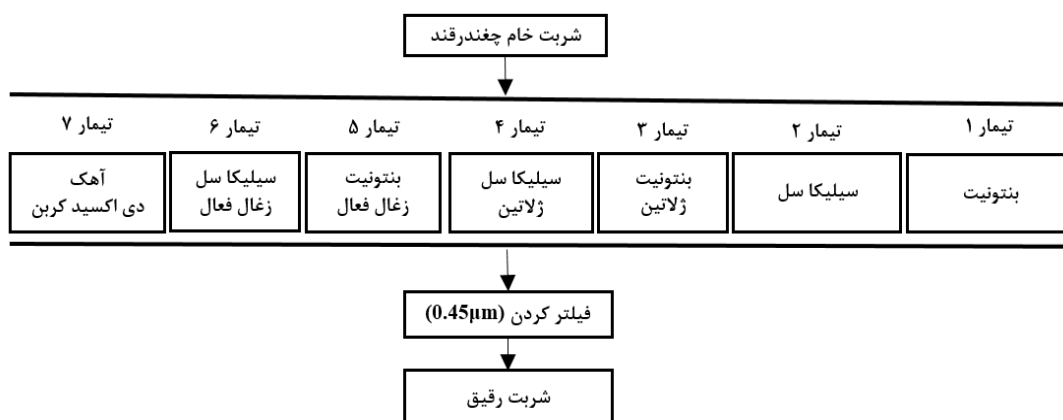
فلوچارت تیمارهای اعمال شده روی شربت خام چغندر در شکل 1 نشان داده شده است. برای هر کدام از آزمایش‌ها 200 میلی‌لیتر شربت در نظر گرفته شد. غلظت جاذب‌ها براساس آزمایش‌های اولیه و مطالعات پیشین تعیین گردید. برای انجام بهتر واکنش بنتونیت با ناخالصی‌ها، باستی بنتونیت 12-18 ساعت قبل از آزمایشات در دمای 50 درجه سانتی‌گراد در آب دیونیزه حل و به‌صورت محلول 10 درصد به نمونه‌ها

پروتئین‌ها را دارد. علاوه بر این، بنتونیت می‌تواند از طریق جذب سطحی نیز ناخالصی‌هایی مانند فلزات سنگین، آفت‌کش‌ها و رنگدانه‌های سیاه را جذب و حذف کند (Koyuncu *et al.*, 2007). در پژوهش‌های پیشین نیز برخی از محققان به توانایی بنتونیت در بهبود ویژگی‌های شربت خام اشاره کرده‌اند (Erdogan *et al.*, 1996; Jahed *et al.*, 2014). اردوغان و همکاران (1996) گزارش کردند که تیمار شربت خام با بنتونیت موجب کاهش 29 درصدی در میزان رنگ و کدورت نمونه‌های شربت می‌شود. توانایی جذبی بنتونیت تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله pH، دما و غلظت می‌باشد. به‌طوری که با افزایش دما و کاهش pH توانایی جذب آن افزایش پیدا می‌کند (Jahed *et al.*, 2014). سیلیکا سل یک نام عمومی برای سوسپانسیون‌های کلوئیدی دی‌اکسید سیلیکون (SiO₂) می‌باشد. سیلیکا سل‌ها نیز همانند بنتونیت دارای بار سطحی منفی هستند که می‌تواند به طریق الکترواستاتیکی به ناخالصی‌های با بار مثبت متصل شود. مهمترین کاربرد سیلیکا سل در صنعت، استفاده در شفاف‌سازی آبمیوه‌ها به‌عنوان مکمل ژلاتین می‌باشد.

ژلاتین یک ترکیب جاذب پروتئینی است که موجب ته‌نشینی ذرات با بار منفی مانند پلی‌فنول‌ها و ترکیبات پکتیکی (عوامل کدورت ثانویه) می‌شود. تیمار ژلاتین اغلب با بنتونیت و سیلیکا سل کامل می‌گردد. در مطالعات پیشین مکانیسم و کاربردهای ژلاتین به‌خوبی مورد بررسی قرار گرفته شده است (Zoecklein, 1988; Benítez and Lozano, 2007). ژلاتین ترجیحاً ملوکول‌های با گروه‌های فنولی بیشتر و توانایی بالا در ایجاد پیوند هیدروژنی را جذب و حذف می‌کند (Zoecklein, 1988). زغال فعال یک ترکیب کربنی و متخلخل است که اغلب در ترکیب با دیگر جاذب‌ها به‌کار می‌رود. یکی از شاخصه‌های زغال فعال، غیرقطبی بودن سطح آن می‌باشد که منجر به میل ترکیب آن با مولکول‌های آلی غیرقطبی می‌باشد. آزمایش‌ها نشان داده است که شدت جذب سطحی به‌ترتیب در الکل‌ها، کتن‌ها و مواد آروماتیک به تدریج افزایش یافته و نهایتاً در مواد چربی‌دار به حداکثر خود می‌رسد (Roy, 1994). در سال‌های اخیر محققان کاربردهای فراوانی برای زغال فعال از جمله رنگبری شربت نیشکر و چغندر قند (Mudoga *et al.*, 2008)، حذف کلر در واحدهای صنعتی (Marsh and Reinoso, 2006)، حذف ترکیبات مضر مانند پاتولین از آبمیوه‌ها (Gökmen *et al.*, 2001) و حذف بوهای نامطلوب از نوشیدنی‌های الکلی (Vanderhaegen *et al.*, 2006) را معرفی کرده‌اند.

یکی از مشکلات اساسی که تولیدکنندگان شکر با آن مواجه هستند تشکیل فلوک در محصولات اسیدی¹ می‌باشد. اگر میزان ناخالصی‌ها در شکر از حد خاصی بیشتر شود احتمال تشکیل فلوک بعد از چند روز نگهداری در یک جای ثابت وجود خواهد داشت. با وجود

اضافه گردد. همچنین، ژلاتین به صورت محلول 2 درصد و زغال فعال به صورت پودر مورد استفاده قرار گرفت. همه تیمارها (به جز تیمار آهک- دی‌اکسید کربن) در دمای 75 درجه سانتی‌گراد و به مدت 100 دقیقه انجام شدند.



شکل 1- تصفیه شیمیایی شربت خام چغندر با استفاده از ترکیبات جاذب مختلف

برای آهک‌زنی مقدماتی ثابت و برابر با 5 کیلوگرم در هر متر مکعب شربت بود.

آزمون‌ها

کدورت

کدورت نمونه‌ها با استفاده از یک توربیدومتر دیجیتالی (Hach Company, Box 389, Loveland, Colo, USA) تعیین گردید و نتایج بر حسب NTU گزارش گردید.

رنگ

رنگ نمونه‌ها مطابق دستورالعمل ایکومزا و با استفاده از یک طیف‌سنج مدل UV-2100 (SCINCO, Seoul, South Korea) در طول موج 420 نانومتر تعیین گردید (ICUMSA, 2000). نتایج با استفاده از فرمول زیر محاسبه و بر حسب واحد ایکومزا (IU) گزارش گردید:

$$C(IU) = 10^5 \frac{A}{L \times \rho \times \text{Brix} \times \rho} \quad (1)$$

که A جذب در طول موج 420 نانومتر؛ L طول مسیر عبور نور (mm)؛ Brix غلظت مواد جامد محلول در نمونه‌ها و ρ دانسیته نمونه‌ها می‌باشد.

خاکستر

خاکستر کل نمونه‌ها با روش هدایت‌سنجی اندازه‌گیری شد. در ابتدا 5 گرم از نمونه‌های شربت وزن و در یک بالن حجمی ریخته شد. سپس بالن با استفاده از آب دیونیزه به حجم رسانده شد و فرآیند همزدن

بعد از اتمام زمان واکنش، نمونه‌ها با استفاده از فیلتر (45 میکرون) به منظور حذف مواد ته‌نشین شده صاف شدند. جزئیات تیمارهای اعمال شده به شرح زیر می‌باشد:

تیمار 1 (T1): شربت خام با استفاده از مقادیر 1 (A)، 2 (B) و 3 (C) گرم بر لیتر بنتونیت تصفیه و شفاف شد.

تیمار 2 (T2): شربت خام با استفاده از مقادیر 1 (A)، 2/5 (B) و 4 (C) میلی‌لیتر بر لیتر سیلیکا سل تصفیه و شفاف شد.

تیمار 3 (T3): شربت خام با استفاده از مقادیر 2 گرم در لیتر بنتونیت و 0/01 (A)، 0/03 (B) و 0/05 (C) گرم در لیتر ژلاتین تصفیه شد.

تیمار 4 (T4): شربت خام با استفاده از مقادیر 2/5 میلی‌لیتر در لیتر سیلیکا سل و 0/01 (A)، 0/03 (B) و 0/05 (C) گرم در لیتر ژلاتین تصفیه شد.

تیمار 5 (T5): شربت خام با استفاده از مقادیر 2 گرم در لیتر بنتونیت و 0/01 (A)، 0/03 (B) و 0/05 (C) گرم در لیتر زغال فعال تصفیه شد.

تیمار 6 (T6): شربت خام با استفاده از مقادیر 2/5 میلی‌لیتر در لیتر سیلیکا سل و 0/01 (A)، 0/03 (B) و 0/05 (C) گرم در لیتر زغال فعال تصفیه شد.

تیمار 7 (T7): تصفیه شیمیایی متداول شربت خام نیز در چهار مرحله آهک‌زنی مقدماتی (15 دقیقه در دمای 85 درجه سانتی‌گراد)، آهک‌زنی اصلی (15 دقیقه در دمای 88 درجه سانتی‌گراد)، کربناسیون اول (تا رسیدن به pH 11، 90 درجه سانتی‌گراد) و کربناسیون دوم (تا رسیدن به pH 9، 92 درجه سانتی‌گراد) اجرا شد. برای انجام بهتر واکنش‌ها، تمامی مراحل همراه با همزدن بود. مجموع مقدار آهک مورد استفاده برای آهک‌زنی در مرحله مقدماتی و اصلی 15 (A)، 20 (B) و 25 (C) کیلوگرم در هر متر مکعب شربت بود. مقدار آهک مورد استفاده

دمای °C 50 نگهداری شد و جذب آن در طول موج 760 نانومتر اندازه‌گیری شد. برای نمونه بلانک هم 0/5 میلی‌لیتر آب مقطر به‌جای آب آلبالو استفاده گردید و نتایج بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر لیتر شربت گزارش شد (Díaz-García *et al.*, 2012).

سایونین‌ها

محتوای سایونین کل نمونه‌های شربت با استفاده از روش وانیلین - سولفوریک اسید تعیین گردید (Ching, 2007). 1 میلی‌لیتر نمونه شربت را با 0/5 میلی‌لیتر محلول وانیلین (80 گرم بر لیتر) مخلوط کرده و سپس در حمام یخ خنک می‌کنیم. 4 میلی‌لیتر اسید سولفوریک (77 درصد) به محلول قبلی (نمونه + وانیلین) اضافه می‌کنیم. محلول را در حمام آب (60 درجه سانتی‌گراد) به مدت 15 دقیقه حرارت داده و سپس در حمام یخ (10 دقیقه) خنک می‌کنیم. در آخر محلول را به دمای اتاق می‌رسانیم و جذب آن را در طول موج 550 نانومتر اندازه‌گیری می‌کنیم. برای نمونه بلانک هم از نسبت 8:1 وانیلین به اسید سولفوریک استفاده گردید و نتایج بر حسب میلی‌گرم اولتانولیک اسید بر لیتر شربت گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش از طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار استفاده گردید. مقایسه میانگین مربعات مختلف با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد انجام شد. برای تجزیه واریانس، مقایسات میانگین و رسم جدول‌ها و شکل‌ها از نرم‌افزارهای SPSS 25، وورد و اکسل استفاده گردید.

نتایج و بحث

کدورت

در این بخش توانایی ترکیبات شفاف‌کننده جهت حذف ترکیبات عامل کدورت مورد بررسی قرار گرفت (شکل 1). کدورت اولیه نمونه شربت خام برابر 582 NTU بود. که بعد از تصفیه با ترکیبات شفاف‌کننده به‌طور قابل توجهی کاهش پیدا نمود. نتایج نشان داد که توانایی بنتونیت در حذف ذرات محلول یا معلق به مراتب بالاتر از سیلیکا سل بود. کاهش معنی‌دار کدورت به‌وسیله بنتونیت قبلاً نیز گزارش شده است. کاهش کدورت بعد از اضافه کردن بنتونیت و سیلیکا سل عمدتاً به دلیل توانایی آنها در جذب و حذف پروتئین‌ها و ناخالصی‌های با بار مثبت می‌باشد. بنتونیت همچنین می‌تواند از طریق جذب سطحی یون فلزات سنگین، حشره‌کش‌ها و رنگدانه‌ها را نیز از شربت جداسازی کند. برخلاف این نتایج، Laksameethanasana و همکاران (2012) در

به‌خوبی انجام گرفت. در نهایت هدایت نمونه با استفاده از یک هدایت‌سنج دیجیتالی (Model LF 538, WTW, Weilheim, Germany) در دمای 20 درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. خاکستر کل با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$A_C (\%) = F_A \times (A_S - A_W) \times \left(\frac{4.5}{m} + \frac{Bx^\circ}{1000} \right) \times 0.0018 \quad (2)$$

که A_C درصد خاکستر، F_A فکتور تصحیح، A_S هدایت الکتریکی نمونه شربت (μS)، A_W هدایت الکتریکی آب دیونیزه (μS)، m جرم نمونه شربت (g)، Bx° غلظت مواد جامد محلول نمونه شربت (%) می‌باشد.

درجه خلوص

درجه خلوص و مقدار ساکارز نمونه‌ها مطابق با دستورالعمل‌های ایکومزا و به روش زیر محاسبه شدند: 50 میلی‌لیتر از نمونه‌ها را همراه با 8 میلی‌لیتر محلول آلومینیوم سولفات (200 گرم بر لیتر) و 5 میلی‌لیتر محلول هیدرواکسید سدیم دو مولار در یک بالن حجمی 200 میلی‌لیتر ریخته و سپس به حجم رساندیم. بعد از فیلتر کردن محتوای بالن، چرخش نوری نمونه‌ها (α) با استفاده از پلاریمتر (Saccharomat, Schmidt + Haensch, Germany) اندازه‌گیری شد. مقدار ساکارز و درجه خلوص براساس فرمول‌های ذیل محاسبه شدند:

$$POL = \frac{2\alpha}{66.4} \times 100 \quad (3)$$

$$Q = \frac{POL}{\alpha_{Brix}} \times 100 \quad (4)$$

که POL میزان ساکارز (%); α چرخش نوری نمونه‌ها (°); Q درجه خلوص (%). Brix ° غلظت مواد جامد محلول (%) می‌باشد.

پروتئین کل

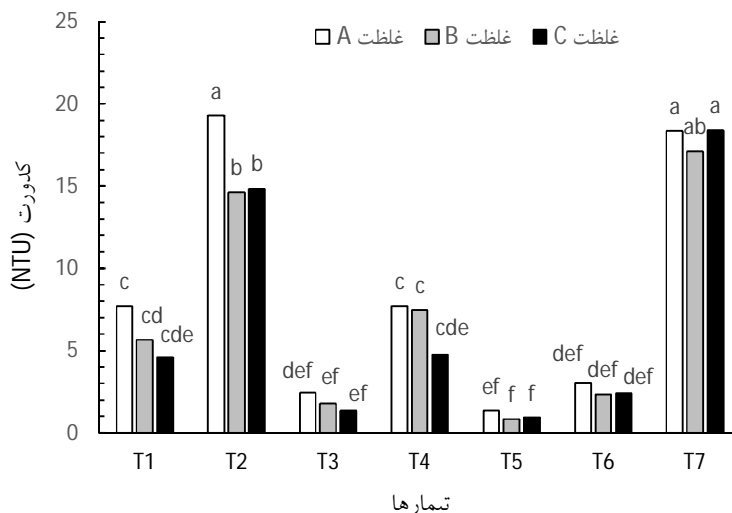
غلظت پروتئین‌ها براساس روش اتصال رنگی بردفورد¹ تعیین گردید. جزئیات کامل روش آزمون در کاتالوگ معرف بردفورد شرکت سیگما موجود می‌باشد (B 6916, Sigma-Aldrich). نتایج بر حسب میلی‌گرم آلومین سرم گاوی در لیتر نمونه گزارش گردید.

ترکیبات فنول کل

محتوای فنولیک کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu) تعیین گردید. 0/5 میلی‌لیتر از نمونه‌های شربت با 2/5 mL فولین-سیوکالتیو (10 مرتبه رقیق شده با آب) مخلوط می‌کنیم. سپس 2 میلی‌لیتر کربنات سدیم (75 گرم بر لیتر) به محلول حاصل اضافه شد (بعد از 8-0/5 دقیقه). محلول به مدت 5 دقیقه در

کدورت نمونه‌های شربت شد. ژلاتین در pH شربت (6) دارای بار منفی است. در حالی که بنتونیت و سیلیکا سل دارای بار منفی می‌باشند.

نمونه‌های شربت خام نیشکر که با بنتونیت (1-3 درصد) تیمار شده بود، هیچگونه تغییر قابل توجهی در میزان کدورت مشاهده نکردند. همانطور که در شکل 1 مشاهده می‌شود تیمار ترکیبی ژلاتین با بنتونیت و سیلیکاسل (T₃ و T₄) موجب کاهش بیشتری در میزان



شکل 1- تأثیر تیمارهای مختلف شیمیایی با استفاده از بنتونیت، سیلیکا سل، ژلاتین و زغال فعال روی کدورت شربت خام چغندر قند (نمونه شاهد=582 NTU)

رنگ

ملانین و ملانوئیدین رنگدانه‌هایی هستند که در شربت خام حضور دارند و بایستی در فرآیند شفاف‌سازی حذف شوند. نتایج آزمایشات نشان داد که همه تیمارهای اعمال شده تأثیر قابل توجهی ($P < 0/05$) روی رنگ نمونه‌های شربت خام چغندر داشتند. رنگ اولیه نمونه شاهد برابر 5993 IU بود که بعد از تیمارهای شفاف‌سازی به‌طور معنی‌داری کاهش نمود. شکل 2 تغییرات رنگ نمونه‌های شربت خام بعد از فرآیند شفاف‌سازی را نشان می‌دهد. بنتونیت تقریباً در همه سطوح در مقایسه با سیلیکاسل به‌عنوان دو ترکیب دارای بار سطحی منفی کاهش بیشتری را در محتوای رنگ نمونه‌ها ایجاد کرده است. کاهش محتوای رنگ نمونه‌های به جذب ترکیبات رنگی به‌وسیله صفحات رسی بر می‌گردد که تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی از جمله اندازه مولکولی، غلظت رنگدانه‌ها، برهمکنش‌های واندروالسی، طول زنجیره رنگدانه‌ها و آنتروپی محیط بستگی دارد (Erdogan et al., 1996). علاوه بر این، داوینینگ و همکاران (2012) نیز استدلال کردند که لخته‌های تشکیل شده بین جاذب‌ها و دیگر ناخالصی‌ها (پروتئین، پکتین و ...) نیز می‌توانند رنگدانه‌ها را روی سطح خود جذب و از سیستم خارج کنند.

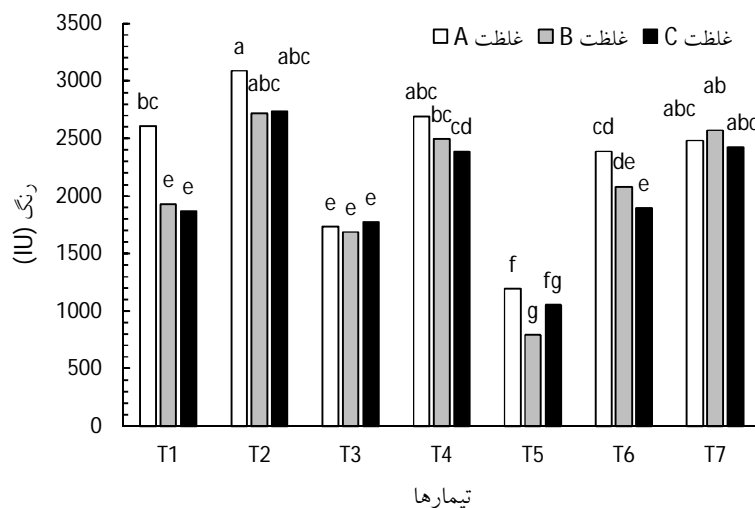
همانطور که در شکل 3 دیده می‌شود ترکیب ژلاتین با بنتونیت/ سیلیکاسل (T₃ و T₄) نیز موجب کاهش محتوای رنگ نمونه‌ها شد. حاتمی کیا و همکاران (2013) و Gökmen و همکاران

بنابراین طی فرآیند شفاف‌سازی ملکول‌های مثبت ژلاتین و دیگر ترکیبات جاذب دارای بار منفی با یکدیگر واکنش و تشکیل فلوک می‌دهند. زمانی که فلوک‌ها تشکیل شدند ترکیبات ایجادکننده کدورت نیز حذف می‌شوند. نتایج مشابهی نیز توسط میر و همکاران (2001) و گوکمن و همکاران (2007) هنگام استفاده از ترکیبات سیلیکاسل - ژلاتین و بنتونیت - ژلاتین (به ترتیب) گزارش شده است. آنها نشان دادند که ترکیب ژلاتین با بنتونیت و سیلیکاسل با حذف ذرات محلول یا معلق تأثیر قابل توجهی روی کدورت نمونه‌های شربت داشت (Gökmen and Çetinkaya, 2007).

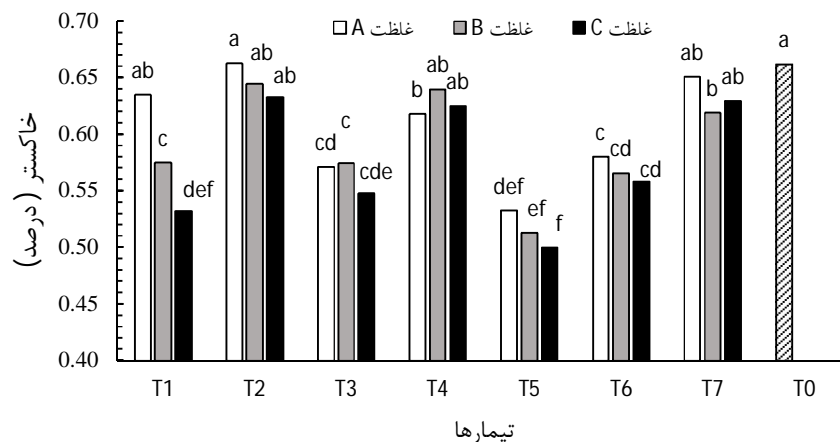
ترکیب بنتونیت و سیلیکاسل با زغال فعال (تیمارهای T₅ و T₆) نیز همانند تیمارهای T₃ و T₄ موجب بهبود کدورت نمونه‌ها شد. نتایج مشابهی توسط Laksameethanasana و همکاران (2012) نیز گزارش شده است. آنها گزارش کردند که زغال فعال توانایی بالایی در حذف ترکیبات ایجادکننده کدورت از شربت دارد. این تغییرات به توانایی زغال فعال در جذب ترکیبات آلی بر می‌گردد که با افزایش سطح ویژه افزایش می‌یابد. تیمار متداول نشان داد هرچند تیمار آهکی تأثیر معنی‌داری روی کدورت نمونه‌ها دارد. اما در مقایسه با تیمارهای پیشنهاد شده توانایی به مراتب ضعیف‌تری در حذف عوامل کدورت‌زا دارد. این نتایج می‌تواند ناشی از برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بهتر در تیمارهای پیشنهاد شده باشد که در روش متداول صورت نمی‌گیرد.

رنگ نمونه‌های آب سیب نیز گزارش شده است. توانایی جذب ترکیبات رنگی توسط زغال فعال به شکل قابل توجهی تحت تاثیر ویژگی‌های ساختاری آن می‌باشد و اصولاً با افزایش مساحت سطح ذرات افزایش می‌یابد (Laksameethanasana *et al.*, 2012).

(2001) نیز کاهش محتوای رنگی نمونه‌های آبمیوه‌ها را بعد از تیمارهای ژلاتین- بنتونیت/ سیلیکاسل گزارش کرده‌اند. با این وجود، تیمارهای ترکیبی زغال فعال (T6 و T7) تاثیر بیشتری بر کاهش رنگدانه‌ها داشت. تاثیر قابل توجه افزودن زغال فعال بر کاهش محتوای



شکل 2- تاثیر تیمارهای مختلف شیمیایی با استفاده از بنتونیت، سیلیکاسل، ژلاتین و زغال فعال روی رنگ شربت خام چغندر قند (نمونه شاهد= 5993)



شکل 3- تاثیر تیمارهای مختلف شیمیایی با استفاده از بنتونیت، سیلیکاسل، ژلاتین و زغال فعال روی خاکستر شربت خام چغندر قند (T0=نمونه شاهد)

می‌گردد. مقدار بالای خاکستر تاثیر خاصی بر نگهداری شکر خام ندارد اما برای تولیدکنندگان شکر مهم است زیرا موجب ملاس‌زایی می‌گردند

خاکستر

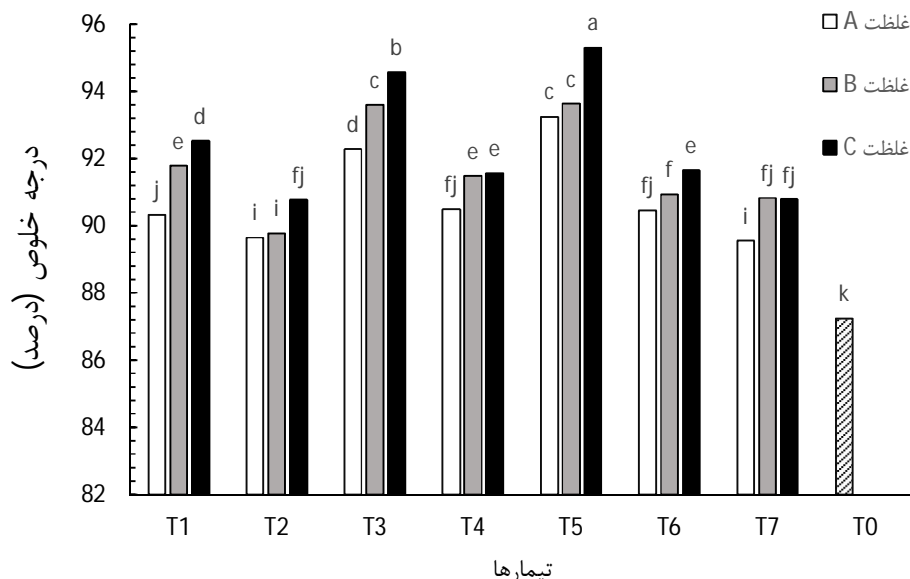
خاکستر به نمک‌های محلول در آب ترکیبات معدنی و غیرمعدنی اطلاق می‌گردد که در شربت خام اغلب به روش هدایت‌سنجی تعیین

افزایش درصد حذف خاکستر از شربت و اثر هم‌افزایی با بنتونیت و سیلیکا سل به مراتب بالاتر از ژلاتین می‌باشد. این توانایی می‌تواند ناشی از ناحیه سطحی بالا، قدرت جذب سطحی بالا و تخلخل بالا در زغال فعال باشد (Marsh and Reinoso, 2006). حذف فلزات سنگین از آب و پساب‌ها نیز یکی از کاربردها اصلی زغال فعال در صنعت می‌باشد.

بررسی تیمار آهک- دی‌اکسید کربن (T7) نشان داد که افزودن آهک نیز می‌تواند سبب کاهش معنی‌داری در میزان خاکستر شربت شود ($P < 0/05$). هرچند میزان کاهش خاکستر در تیمار T7 به مراتب پایین‌تر از دیگر تیمارها (T3, T5, T6 و T1-C) بود. کاهش خاکستر در تیمار آهک- دی‌اکسید کربن می‌تواند ناشی از جذب عناصر روی فلوک‌های کربنات کلسیم در مرحله کربناسیون باشد.

درجه خلوص

درجه خلوص اصطلاحی است که تکنولوژیست‌های صنعت قند از آن برای توصیف کیفیت شربت استفاده می‌کنند و همچنین بیان‌کننده‌ی مقدار شکر است که می‌توان از شربت استخراج کرد. شکل 4 تغییرات درجه خلوص بعد از اعمال تیمارهای مختلف شیمیایی را نشان می‌دهد.



شکل 4- تاثیر تیمارهای مختلف شیمیایی با استفاده از بنتونیت، سیلیکا سل، ژلاتین و زغال فعال روی درجه خلوص شربت خام چغندر قند (T0=نمونه شاهد)

الکتریکی منفی، توانایی چشمگیری برای تشکیل فلوک با ترکیبات بار مثبت (کلوئیدها، رنگدانه‌ها، پروتئین‌ها، ...) دارند (پیروزی فرد، 1387). همچنین می‌توان مشاهده کرد که بنتونیت در مقایسه با سیلیکا سل

(Asadi, 2006). تغییرات خاکستر بعد از اعمال تیمارهای مختلف شیمیایی در شکل 1 نشان داده شده است.

یافته‌های ما نشان داد که متناسب با افزایش غلظت بنتونیت و سیلیکا سل میزان خاکستر نمونه‌ها کاهش پیدا می‌کند (شکل 3). در حذف ناخالصی‌های شربت خام چغندر با استفاده از بنتونیت و سیلیکا سل دو عامل اصلی جذب سطحی و تاثیر بارهای متقابل دخالت دارند. بنابراین افزایش درصد جذب خاکستر با افزایش غلظت بنتونیت و سیلیکا سل بخاطر افزایش ناحیه سطح جذبی و افزایش در دسترس بودن مکان‌های جذب می‌باشد (Garg et al., 2004). همچنین در نتایج دیگر محققان مشخص شده است که افزایش دما نیز موجب بهبود شرایط جذب برای سیلیکا سل و بنتونیت می‌گردد (Mekhemer et al., 2008; Jahed et al., 2014) که در آزمایشات ما دمای 75 درجه سانتی‌گراد مورد استفاده قرار گرفت.

ترکیب ژلاتین و زغال فعال با بنتونیت و سیلیکا سل هم‌تاثیر مثبتی روی میزان حذف نمک‌های محلول گذاشت (T3, T4, T5 و T6). این نتایج مطابق تحقیقات جاهد و همکاران (2014) است. آن‌ها نشان دادند که با افزایش غلظت ژلاتین از 0/01 تا 0/05 گرم بر لیتر درصد حذف خاکستر از شربت افزایش می‌یابد. در مقایسه بین تیمارهای ترکیبی ژلاتین و زغال فعال هم می‌توان مشاهده کرد توانایی زغال فعال در

نتایج حاصله نشان داد که تیمارهای بنتونیت و سیلیکا سل متناسب با افزایش غلظت موجب بهبود (افزایش) درجه خلوص شربت شربت شدند. بنتونیت و سیلیکا سل با دارا بودن خاصیت جذب سطحی و بار

ضروری می‌باشد. با این وجود، کیم و همکاران (2014) گزارش کردند که بنتونیت و سیلیکا سل تاثیر معنی‌داری روی محتوای پروتئینی آب انگور نداشت.

بررسی تیمارهای T3 و T4 هم نشان داد که ترکیب ژلاتین با بنتونیت و سیلیکاسل موجب افزایش قابل توجهی در محتوای پروتئین‌های شربت شد. این پدیده می‌تواند به رقابت بین پروتئین‌ها با بار مثبت (ژلاتین و پروتئین‌های موجود در شربت) برای اتصال با بنتونیت با بار منفی (یا سیلیکا سل) مربوط باشد (Benítez and Lozano, 2007; Hatamikia et al., 2013). برخلاف تیمار ترکیبی ژلاتین، تیمار شربت با زغال فعال با موجب کاهش قابل توجهی در محتوای پروتئینی شد که با نتایج دیگر محققان مطابقت داشت (Kim et al., 2014). با توجه به اینکه پروتئین‌ها یکی از عوامل کلیدی در تشکیل فلوک در دوره نگهداری در نوشیدنی‌های اسیدی می‌باشد، ضروری است که تولیدکنندگان شکر از تیمار شربت با زغال فعال برای بهبود کیفیت شکر و جلوگیری از تشکیل فلوک در محصولات استفاده کنند.

ترکیبات فنولی کل

ترکیبات پلی فنولی (فنولی) مولکول‌های با حلقه‌های بنزنی و گروه‌های هیدرواکسیل هستند که توانایی ایجاد پیوند هیدروژنی با جاذب‌های شیمیایی از جمله ژلاتین را دارا می‌باشند. از ترکیبات پلی‌فنولی معروف در چغندر قند نیز می‌توان به وانیلین، کمپفرول، فرولول- آرابینوز- آرابینوز، کافویل تارتاریک اسید، هیدروکسی‌بنزالدهید و سیرینژیک اسید اشاره کرد (Valli et al., 2012).

بررسی تاثیر تیمارهای مختلف تصفیه شیمیایی روی ترکیبات فنولی کل شربت در جدول 1 نشان داده است. همانطور که مشاهده می‌کنیم تیمارهای بنتونیت و سیلیکا سل موجب کاهش معنی‌داری در محتوای ترکیبات پلی‌فنولی شدند ($P < 0/05$). محققان حذف پروتئین‌ها از شربت بعد از تیمار بنتونیت و سیلیکا سل را به جذب غیرمستقیم ترکیبات فنولی از طریق پروتئین‌ها نسبت داده‌اند (Marchal and Jeandet, 2009). Türkylmaz و همکاران (2012) ادعا کردند که کاهش محتوای رنگی می‌تواند ناشی از برهمکنش بین بنتونیت/سیلیکاسل، پروتئین و پلی‌فنول‌ها باشد. همانطور که می‌دانیم، اختلاف بین بار یونی ترکیبات شفاف‌کننده و پروتئین‌ها منجر به جذب (برگشت ناپذیر) ترکیبات پروتئینی توسط جاذب‌ها می‌گردد و از کدورت ثانویه در شربت و آبمیوه‌ها جلوگیری می‌کند. از طرفی دیگر، شفاف‌کننده‌ها به طور غیر مستقیم و از طریق برقراری پیوند هیدروژنی بین پروتئین‌ها و ترکیبات پلی‌فنولی موجب حذف ترکیبات پلی‌فنولی می‌گردد. در تیمارهای T3 و T4، ترکیب ژلاتین با جاذب‌های دیگر موجب بهتر شدن شرایط برای حذف ترکیبات فنولی شد (جدول 1).

توانایی بالاتری در افزایش درجه خلوص دارد. به طوری در تیمارهای T1-3 و T2-3 درجه خلوص از 87/2 به ترتیب به 92/5 و 90/7 درصد افزایش پیدا کرد. بررسی تیمارهای T3 و T4 هم نشان داد که ترکیب ژلاتین با بنتونیت و سیلیکا سل موجب بهبود کارایی آنها در حذف ناخالصی‌ها می‌گردد. که با نتایج جاهد و همکاران نیز مطابقت داشت (Eisa Jahed, 2015). افزایش درجه خلوص هنگام اضافه کردن ژلاتین ناشی از ماهیت متفاوت آن نسبت به دیگر جاذب‌ها (بنتونیت و سیلیکا سل) می‌باشد، که دارای بار منفی است و هنگام اضافه شدن به سیستم به سرعت در تشکیل فلوک با دیگر جاذب‌ها (ترکیبات تصفیه کننده) وارد عمل می‌شود. در تیمارهای T5 و T6 مشاهده شد که ترکیب زغال فعال با بنتونیت و سیلیکا سل همانند ژلاتین موجب بهبود درجه خلوص می‌شود. حذف هرچه بیشتر ناخالصی‌ها توسط زغال فعال می‌تواند دلیلی برای افزایش درجه خلوص باشد که در تیمارهای مذکور مشاهده گردید.

بررسی کاربرد آهک - دی‌اکسید کربن به عنوان روش متداول در کارخانه‌ها هم نشان داد که استفاده از آهک متناسب با افزایش غلظت آن (تا 25) موجب افزایش درجه خلوص شربت می‌شود. این نتایج با یافته دیگر محققان نیز مطابقت داشت (Almohammed et al., 2017). مقایسه روش متداول با دیگر تیمارها مشخص کرد که تیمارهای ترکیبی بنتونیت با ژلاتین و زغال فعال از نظر درجه خلوص بهترین تیمار بودند.

پروتئین کل

در مرحله دیفوزیون سرعت انتشار پروتئین‌ها در مقایسه ساکارز بسیار پایین‌تر است. اما کیفیت پایین چغندر‌ها یا انجام فرآیند دیفوزیون در دمای بالاتر می‌تواند سرعت انتشار آنها را افزایش دهد. اهمیت حذف پروتئین به این دلیل است که این ترکیبات در غلظت‌های بسیار کم هم در درساز هستند. در تیمارهای T1 و T2، یک روند مشخص وجود دارد که نشان‌دهنده کاهش محتوای پروتئین نمونه‌ها با افزایش غلظت بنتونیت و سیلیکا سل می‌باشد (جدول 1). پروتئین‌ها در pH شربت دارای بار مثبت هستند در نتیجه می‌توانند به خوبی با بنتونیت و سیلیکا سل که دارای بار منفی هستند، پیوند برقرار کنند و تشکیل فلوک دهند. نتایج مشابهی با یافته‌های ما توسط حاتمی‌کیا و همکاران (2013) گزارش شده است. آنها نشان دادند که حذف پروتئین‌ها با افزایش غلظت بنتونیت و سیلیکا سل در شربت رابطه مستقیمی دارد. پروتئین‌ها یکی از عوامل تشکیل فلوک در نوشیدنی‌های اسیدی هستند که در فرمولاسیون آنها میزان بالای شکر به کار رفته باشد. در آبمیوه‌ها نیز وجود پروتئین‌ها می‌تواند مشکل‌ساز باشد زیرا در دوره نگهداری، پروتئین‌ها با ترکیبات فنولی واکنش می‌دهند و موجب کدورت ثانویه می‌گردند. بنابراین کاهش میزان پروتئین‌ها به یک سطح قابل قبول

جدول 1- تاثیر تیمارهای مختلف شیمیایی روی محتوای پروتئین، ترکیبات فنول و ساپونین کل شربت خام چغندر قند

تیمار	غلظت	پروتئین کل (mg/L)	فنول کل (mg/L)	ساپونین کل (mg/L)
T0	0	209 ^a	913 ^a	7/14 ^a
T1	A	119/8 ^{fg}	479 ^d	5/87 ^b
B	2 g/L بنتونیت	97/3 ^{gh}	460 ^d	4/46 ^{de}
C	3 g/L بنتونیت	65/9 ⁱ	356 ^e	4/22 ^{ef}
T2	A	189/4 ^{ab}	743 ^b	66/2 ^a
B	2/5 ml/L سیلیکا سل	176/7 ^{bc}	438 ^e	5/15 ^{cd}
C	4 ml/L سیلیکا سل	148/2 ^{de}	474 ^e	5/52 ^{bc}
T3	A	99/2 ^{jh}	263 ^f	1/62 ^{ghi}
B	2 g/L بنتونیت + 0/03 g/L ژلاتین	106/1 ^{fgh}	232 ^{fg}	2/07 ^{gh}
C	2 g/L بنتونیت + 0/05 g/L ژلاتین	115/9 ^{fgh}	222 ^{fgh}	1/82 ^{gh}
T4	A	146/3 ^{de}	364 ^e	3/20 ^g
B	2/5 ml/L سیلیکا سل + 0/01 g/L ژلاتین	190/4 ^{ab}	267 ^f	2/99 ^g
C	2/5 ml/L سیلیکا سل + 0/03 g/L ژلاتین	208/0 ^a	225 ^{fgh}	2/16 ^h
T5	A	55/1 ⁱ	159 ^{hi}	1/32 ^{hi}
B	2 g/L بنتونیت + 0/01 g/L زغال فعال	67/8 ⁱ	112 ⁱ	1/00 ⁱ
C	2 g/L بنتونیت + 0/03 g/L زغال فعال	57/1 ⁱ	146 ⁱ	1/01 ⁱ
T6	A	157/1 ^{cd}	176 ^{ghi}	3/61 ^{fg}
B	2/5 ml/L سیلیکا سل + 0/01 g/L زغال فعال	113/9 ^{fgh}	148 ⁱ	1/59 ^{ghi}
C	2/5 ml/L سیلیکا سل + 0/03 g/L زغال فعال	106/1 ^{fgh}	140 ⁱ	1/63 ^{ghi}
T7	A	162/0 ^{cd}	569 ^c	4/90 ^{cde}
B	15 Kg/m ³ آهک	131/6 ^{ef}	412 ^{de}	3/54 ^{fg}
C	20 Kg/m ³ آهک	91/4 ^g	369 ^e	3/67 ^{fg}
	25 Kg/m ³ آهک			

ساپونین کل

ساپونین‌ها ترکیبات گلیکوزیدی هستند که بیشتر در زیر پوست و دم چغندر یافت می‌شوند. ساپونین‌ها کاهش‌دهنده کشش سطحی و از عوامل عمده ایجادکننده کف در شربت خام هستند که ترکیباتی به شدت ملاس‌زا محسوب می‌گردند. بررسی تاثیر روش‌های مختلف تصفیه شیمیایی روی ساپونین‌ها در شکل 1 آورده شده است. تیمارهای شیمیایی با بنتونیت و سیلیکا سل نشان داد که متناسب با افزایش غلظت آنها محتوای ساپونین‌های شربت کاهش پیدا می‌کند. با توجه به اینکه در برخی از منابع به بار منفی و ضعیف ساپونین اشاره کرده‌اند، می‌توان استدلال کرد که حذف ساپونین‌ها توسط بنتونیت و سیلیکا سل ناشی از جذب غیر مستقیم آنها می‌باشد. با وجود اینکه ساپونین‌ها دارای بار سطحی منفی هستند تیمار ترکیبی ژلاتین با بنتونیت تغییرات معنی‌داری را در میزان ساپونین نمونه‌ها نشان نداد ($P < 0/05$). برخلاف ژلاتین، تیمار بنتونیت و سیلیکا سل با زغال فعال موجب کاهش قابل توجهی در میزان ساپونین‌ها شد

مهمترین کاربرد ژلاتین در صنعت آبمیوه حذف ترکیبات ناپایدار پلی‌فنولی می‌باشد. تشکیل پیوند هیدروژنی بین ژلاتین و پلی‌فنول‌ها از ویژگی بارز ژلاتین می‌باشد که برای جلوگیری از کدورت ثانویه در آبمیوه و نوشیدنی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد.

تیمار ترکیبی زغال فعال با بنتونیت و سیلیکا سل هم روند کاهش را در محتوای ترکیبات پلی‌فنولی نشان داد (جدول 1). به طوری که در تیمارهای T3-3 و T4-3 مقدار کل ترکیبات پلی‌فنولی به ترتیب از 913 به 222 و 225 میلی‌گرم در لیتر کاهش پیدا کرد. این نتایج مطابق تحقیقات Jung و همکاران (2001) است. آنها استدلال دادند که زغال فعال با دارا بودن گروه‌های فعال مانند کربوکسیل، لاکتون، آلدهیدها، کتون‌ها و کینون‌ها توانایی بالایی در حذف ترکیبات آلی مانند فنول‌ها دارد. مقایسه تیمار متداول با تیمارهای دیگر نشان داد که با وجود تاثیر مثبت آهک در حذف ترکیبات فنولی، قدرت و توانایی آن پایین‌تر از دیگر جاذب‌ها بود. بهترین نتیجه بین تیمارهای مختلف مربوط به تیمار بنتونیت- زغال فعال بود که موجب کاهش 75 درصدی در محتوای ترکیبات فنولی گردید.

گرفت. براساس پارامترهای کیفی (کدورت، رنگ، خاکستر و درجه خلوص) مشخص شد که مواد جاذب مورد استفاده (بتونیت، سیلیکا سل، ژلاتین و زغال فعال) به شکل معنی‌داری شاخص‌های تصفیه‌ای را بهبود بخشیدند. همچنین، پروتئین، ترکیبات فنولی و ساپونین‌ها نیز به عنوان ترکیبات موثر در ایجاد فلوک در نوشیدنی اسیدی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که استفاده از ترکیبات جاذب (تصفیه کننده) می‌تواند گزینه مناسبی برای کاهش این ترکیبات و جلوگیری کننده از فلوک در محصولات اسیدی فرآوری شده با شکر باشد. از مقایسه ترکیبات جاذب با همدیگر نیز می‌توان نتیجه گرفت که توانایی بتونیت در حذف ناخالصی‌ها به مراتب بالاتر از سیلیکا سل بود و ژلاتین و زغال فعال هم می‌تواند مکمل خوبی برای تیمار شربت با بتونیت (سیلیکا سل) باشند. در این مطالعه همچنین کارایی جاذب‌ها با روش تصفیه متداول (آهک-دی اکسید کربن) مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که این ترکیبات به ویژه در حذف ناخالصی‌های مشکل‌ساز در فرمولاسیون نوشیدنی‌ها بسیار کارآمد بوده و می‌توان از آنها در تصفیه شربت خام بهره برد.

و میزان ساپونین در تیمار T5 به 1 میلی‌گرم در هر لیتر شربت رسید که مقدار بسیار کمی به حساب می‌آید. چنانچه ساپونین‌ها مراحل مختلف تصفیه را طی کرده و وارد ساختمان شکر شوند هنگام استفاده در محصولات اسیدی و یا در صنایع نوشابه‌سازی مشکل‌ساز می‌شوند. زیرا زمانی که شکر در آب حل شده و به آن اسید اضافه شود، ساپونین‌ها به صورت نامحلول در آمده، منعقد شده و ایجاد رسوب کلوئیدی می‌دهند.

بررسی تیمار آهکی هم نشان داد که استفاده از آهک و دی‌اکسید کربن نیز میزان ساپونین‌ها را به شکل قابل توجهی کاهش می‌دهد. به طوری که در تیمار T7-2 مقدار ساپونین از 7/14 به 3/56 میلی‌گرم در هر لیتر شربت کاهش پیدا کرد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه چهار ماده بتونیت، سیلیکا سل، ژلاتین و زغال فعال برای بهبود شاخص‌های تصفیه شربت خام و حذف ناخالصی‌های عامل فلوک در نوشیدنی‌های اسیدی (مانند نوشابه گازدار) مورد استفاده قرار

منابع

- Almohammed, F., H. Mhemdi and E. Vorobiev, 2017. Purification of juices obtained with innovative pulsed electric field and alkaline pressing of sugar beet tissue. *Separation and Purification Technology*, 173: 156-164.
- Asadi, M., 2006. Beet-sugar handbook. John Wiley & Sons.
- Benítez, E.I. and J.E. Lozano, 2007. Effect of gelatin on apple juice turbidity. *Latin American applied research*, 37(4): 261-266.
- Ching, F., 2007. Chinese herbal drug research trends. America nova publishers
- Clarke, M.A., E.J. Roberts and M.A. Godshall, 1999. Acid beverage floc from sugar beets. *Journal of sugar beet research*, 36: 15-28.
- Decloux, M., 2002. Procédés de transformation en sucrerie (partie 1). Techniques de l'ingénieur. *Agroalimentaire*, 3(F6150): F6150. 6151-F6150. 6118.
- Díaz-García, M., J. Obón, M. Castellar, J. Collado and M. Alacid, 2012. Quantification by uhplc of total individual polyphenols in fruit juices. *Food chemistry*.
- Eisa Jahed, m.H.K., mohamad Elahi, 2015. The investigation of bentonite and gelatin effects on purification indexes of raw sugar beet juice to production of liquid sugar. *JFST*, 12.(48)
- Erdogan, B., Ş. Demirci and Y. Akay, 1996. Treatment of sugar beet juice with bentonite, sepiolite, diatomite and quartamin to remove color and turbidity. *Applied Clay Science*, 11(1): 55-67.
- Garg, V., R. Gupta, R. Kumar and R. Gupta, 2004. Adsorption of chromium from aqueous solution on treated sawdust. *Bioresource Technology*, 92(1): 79-81.
- Gökmen, V., N. Artık, J. Acar, N. Kahraman and E. Poyrazoğlu, 2001. Effects of various clarification treatments on patulin, phenolic compound and organic acid compositions of apple juice. *European Food Research and Technology*, 213(3): 194-199.
- Gökmen, V. and Ö. Çetinkaya, 2007. Effect of pretreatment with gelatin and bentonite on permeate flux and fouling layer resistance during apple juice ultrafiltration. *Journal of food engineering*, 80(1): 300-305.
- Hatamikia, M., A. Sani and S. Zomorodi, 2013. Effect of different clarifying agents on the physico-chemical and microbial properties of grape juice concentrate. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 5.(1)

- Iciek, J., I. Blaszczyk, J. Biernasiak, K. Lisik and M. Wojtczak, 2012. Flocculation in acidified solutions of white sugar—a literature review. *Zuckerindustrie-Sugar Industry*, 137(7): 449.
- ICUMSA, 2000. Methods book, international commission for uniform methods of sugar analysis. ICUMAS publications, Operations Service, *Science. c/o British Sugar plc*.
- Jahed, E., M.H.H. Khodaparast and A.M. Khaneghah, 2014. Bentonite, temperature and pH effects on purification indexes of raw sugar beet juice to production of inverted liquid sugar. *Applied Clay Science*, 102: 155-163.
- Jung, M.-W., K.-H. Ahn, Y. Lee, K.-P. Kim, J.-S. Rhee, J.T. Park and K.-J. Paeng, 2001. Adsorption characteristics of phenol and chlorophenols on granular activated carbons (gac). *Microchemical journal*, 70(2): 123-131.
- Kim, J.S., J.H. Yun, M.R. Lee, S.H. Kim, J.-H. Lee and K.-H. Jang, 2014. Effect of processing of moru (*Vitis amurensis*) wine on clarification. *International journal of fruit science*, 14(4): 405-415.
- Koyuncu, H., A.R. Kul, A. Çalimli, N. Yıldız and H. Ceylan, 2007. Adsorption of dark compounds with bentonites in apple juice. *LWT-Food Science and Technology*, 40(3): 489-497.
- Laksameethanasana, P., N. Somla, S. Janprem and N. Phochuen, 2012. Clarification of sugarcane juice for syrup production. *Procedia Engineering*, 32: 141-147.
- Marchal, R. and P. Jeandet, 2009. Use of enological additives for colloid and tartrate salt stabilization in white wines and for improvement of sparkling wine foaming properties. In: *Wine chemistry and biochemistry*, Springer: pp: 127-158.
- Marsh, H. and F.R. Reinoso, 2006. *Activated carbon. Elsevier*.
- Mekhemer, W., J. Hefne, N. Alandis, O. Aldayel and S. Al-Raddadi, 2008. Thermodynamics and kinetics of CO₂ adsorption onto natural and treated bentonite.
- Morton, P.A. and B.S. Murray, 2001. Acid beverage flocculation: Protein-saponin interactions and an unstable emulsion model. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 21(1): 101-106.
- Mudoga, H., H. Yucel and N. Kincal, 2008. Decolorization of sugar syrups using commercial and sugar beet pulp based activated carbons. *Bioresource technology*, 99(9): 3528-3533.
- Roy, G.M., 1994. *Activated carbon applications in the food and pharmaceutical industries*. CRC press.
- Valli, V., A.M. Gómez-Caravaca, M. Di Nunzio, F. Danesi, M.F. Caboni and A. Bordoni, 2012. Sugar cane and sugar beet molasses, antioxidant-rich alternatives to refined sugar. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(51): 12508-12515.
- Vanderhaegen, B., H. Neven, H. Verachtert and G. Derdelinckx, 2006. The chemistry of beer aging—a critical review. *Food Chemistry*, 95(3): 357-381.
- Zoecklein, B., 1988. Bentonite fining of juice and wine. Virginia Cooperative Extension Service.

Use of clarifying agents in the purification of raw sugar beet juice

E. Arjeh¹, M. Pirouzfard^{2*}, S. Pirsai²

Received: 2018.04.12

Accepted: 2018.11.01

Introduction Raw sugar beet juice (RSBJ) is an intermediate of sugar beet processing obtaining by diffusion process. The RSBJ contains approximately 85% water, 13% sucrose, and 2% non-sugar compounds (impurities) and its purity ranges from 85 to 88%. Due to the low purity, the RSBJ should be subjected to purification process. The conventional purification occurs in a complex multistage process including pre-liming, main liming, first carbonation, and second carbonation. In liming step, lime milk ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) is added to destabilize and precipitate the non-sugar compounds. Then the CO_2 gas is added to precipitate the lime (as calcium carbonate). Although the application of lime is very well known but some impurities, including phenolic compounds, saponins, proteins and lipids pass through purification processing into the white sugar and cause serious difficulties. Due to the variety of compounds (dissolved or suspended) present in RSBJ and this fact that different processes may remove different types of compounds, various fining agents are required to clarification of raw juices. Bentonite, silica sol, gelatin and activated carbon are four types of natural adsorbents, which have been used in many applications, in different fields and processes, including the food industry. Differences in the nature of ionic charges of juice compounds and the fining agents induce neutralization, and flocculation and result in the removal of them from the juice. Therefore, the purpose of this study was to investigate the efficiency of bentonite, silica sol, gelatin and activated carbon in the removal of impurities (protein, saponin and phenolic compounds) causing floc in acidic beverage and improving the purification indexes of RSBJ (turbidity, color, ash and purity). Floc refers to the cloudy and turbid precipitate that forms in some sugar-sweetened carbonated soft drinks after standing for several days. While flocs are harmless, they are a visible defect and consumers don't accept the soft drink product for aesthetic reasons. Currently, most researchers assume that saponins are primarily responsible for floc formation. However, there are some studies indicating that protein, phenolic compounds and lipids also play a role in floc formation.

Materials and methods: The RSBJ was regularly obtained from the sugar factory of Piranshahr, Iran. The RSBJ was sampled at the point just before the purification step and immediately transferred to the lab. Fining agents used for clarification including bentonite (Na-Ca Bentonite ERBSLÖH, Geisenheim, Germany), silica sol 15% (Baykisol 15%), Gelatin (type-A; 100 bloom, Erbigel, Germany) and activated carbon (CS-2000, Gostar Ghoumes CO. Iran) was provided by Azar kam Co. Urmia. Iran. For each experiment, 200 ml of the raw juice was subjected to various refining treatments. The RSBJ were refined at 75 °C for 100 min by fining agents. Fining agents were added to beet juice samples according to the preliminary experiments. After the completion of the clarifying process, juice samples were passed through a microfilter (45 μm) to removing formed floc. In order to compare the mentioned treatments (bentonite, silica sol, gelatin and activated carbon) with the conventional method, the RSBJ was also treated with lime-carbon dioxide in four stages (pre-liming (15 minutes at 85 °C), main liming (15 min at 88 °C), first carbonation (up to pH 11, 90 °C) and second carbonation (up to pH 9, 92 °C)). After applying the treatments, purity and ash content (by conductimetry method) was measured as the main purification indexes for assessing the quality of the juice samples. The total protein (by dye-binding method), total phenolic compound (by Folin-Ciocalteu reagent) and total saponin content (by vanillin-sulfuric acid method) was also determined as the compounds have a key role in formation of acid beverage floc.

Results and discussion: In this study, four refining agents of bentonite, silica sol, gelatin and activated carbon were used to improve the purification indexes of RSBJ and to remove non-sugar impurities causing floc in acidic beverage (such as carbonated beverages). Based on the ash and purity, it was showed that the applied adsorbents (bentonite, silica, gelatin and active charcoal) significantly improved the purification indexes of RSBJ. The results also showed that the ability of bentonite as a negative charged adsorbent was considerably higher than silica-sol in removing impurities (protein, saponin and phenolic compounds) causing floc, and improving the purification indexes (turbidity, color, ash and purity). So, the bentonite treatment reduced protein, phenolic compounds and saponin content of juice by 68, 61 and 40 %, respectively. The combination of gelatin and activated carbon as supplemental clarifiers with bentonite and silica also improved the parameters measured. In general, Bentonite-Activated carbon treatment had the best results, resulting in a

1 and 2.Ph.D student and Associate Professor, Department of food science and technology, Faculty of agriculture, Uremia university.

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

reduction of 73, 87 and 85 % in protein, phenolic compounds and saponin, respectively. In this study, mentioned treatments were also compared with conventional treatment (lime-carbon dioxide) and it was observed that new treatments can be a good choice to combine or replace with conventional treatment.

Keyword: Sugar beet juice; Chemical purification; Bentonite; Silica sol; Gelatin; Activated carbon

تأثیر پوشش کیتوزان حاوی عصاره علف لیمو بر کیفیت برش میوه "به" آبیگری شده در طول دوره نگهداری

آتوسا عصارزادگان¹ - محمد فاضل^{2*}

تاریخ دریافت: 1397/06/13

تاریخ پذیرش: 1397/11/27

چکیده

عوامل مخرب میکروبی، شیمیایی و مکانیکی منجر به کاهش عمر مفید برش‌های میوه به می‌گردد. بدین منظور از پوشش کیتوزان، عصاره علف‌لیمو و پیش‌تیمار بلانچینگ و آبیگری اسمزی استفاده شد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پوشش کیتوزان حاوی عصاره علف لیمو بر روی ماندگاری برش‌های میوه به آبیگری شده است. پس از بلانچ کردن نمونه، به ترتیب فرآیند آبیگری اسمزی و پوشش‌دهی انجام شد و تیمارها در دمای یخچال (4 ± 1 درجه سانتی‌گراد) به مدت 4 هفته نگهداری شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در 3 تکرار انجام شد. متغیرها شامل نوع محلول اسمزی (ساکارز، سوربیتول) و تیمارهای پوششی (پوشش کیتوزان حاوی صفر، 0/5، 1 و 2 درصد عصاره علف لیمو) است. ویژگی‌های مورد بررسی شامل کاهش وزن (%، اسیدیته، pH، غلظت اسید آسکوربیک، خواص رنگی (مؤلفه‌های L^* ، a^* و b^*)، بافت، فنول کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بود که در هفته اول، دوم، سوم و چهارم بررسی شد. در این مطالعه بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، اسید آسکوربیک، فنول کل، اسیدیته و کمترین میزان افت وزن مربوط به پوشش کیتوزان حاوی 2 درصد عصاره علف لیمو بود. افزایش غلظت عصاره موجب کاهش a^* (قرمزی) و L^* (روشنایی) میوه به شد. در به پوشش داده شده با کیتوزان میزان نرم‌شدگی به دلیل تنفس و فعالیت آنزیمی کمتر میوه محسوس نبوده است. بر اساس نتایج حاصله از این مطالعه، پوشش خوراکی حاوی 2 درصد عصاره علف لیمو به عنوان بهترین فرمول حاصله پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: عصاره علف لیمو، کیتوزان، برش‌های میوه به، آبیگری اسمزی، پوشش‌های خوراکی

مقدمه

نموده و همچنین رشد میکروارگانیسم‌ها را کنترل می‌نمایند (Sapers *et al.*, 1993). در پژوهشی که Gothandapani و همکاران (1997) انجام دادند، از نیم درصد متابی‌سولفیت پتاسیم قبل از فرآیند خشک کردن استفاده کردند، نتایج حاصله از نظر رنگ و کاهش بار میکروبی قابل توجه بوده است. با توجه به اثرات منفی روش‌های متداول خشک کردن (از دست دادن مواد مغذی، کاهش کیفیت رنگ و بافت) تلاش‌های گسترده‌ای جهت کاهش اثرات منفی خشک کردن صورت گرفته که در سال‌های اخیر فرآیند آبیگری اسمزی مورد توجه قرار گرفته است. آبیگری اسمزی برای حذف جزئی آب از بافت گیاه توسط غوطه‌ور کردن در محلول قندی یا نمکی انجام می‌شود (Akbarian *et al.*, 2014). در پژوهشی که Yadav و همکاران (2014) انجام دادند، دریافتند که آبیگری اسمزی به دلیل عدم تخریب رنگ، عطر و طعم، بافت و مواد مغذی یکی از بهترین روش‌های نگهداری می‌باشد و می‌توان برای کاهش تلفات میوه و سبزی پس از برداشت استفاده کرد.

میوه "به" با نام علمی *Spondias mombin* از خانواده سبب می‌باشد و برای تازه‌خوری، تولید کمپوت مربا و مارمالاد به کار می‌رود. میانگین تولید آن طی ده سال گذشته در دنیا 510000 تن برآورد شده است (Noshad *et al.*, 2012). عوامل مخرب میکروبی، شیمیایی و مکانیکی منجر به کاهش عمر مفید میوه به می‌شود (Akbarian *et al.*, 2015). دو آنزیم رایج قهوه‌ای شدن پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO)⁴ و پراکسیداز (POD)⁵ می‌باشند که منجر به بدطعمی و تغییرات نامطلوب در رنگ می‌شوند. جهت غیرفعال‌سازی آنزیم‌های مربوطه از بلانچینگ استفاده می‌شود (Xiao *et al.*, 2014). Ndiaye و همکاران (2009) دریافتند که به علت وجود آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در میوه به، بلافاصله پس از پوست‌کنی تغییر رنگ در آن‌ها آغاز می‌شود، آنزیم‌بری روشی مناسب برای غیرفعال کردن این آنزیم‌ها است. سولفیت‌ها ترکیبات چند عملکردی هستند که از قهوه‌ای شدن ممانعت

محلول‌های اسمزی

تیمارهای اسمزی (ساکارز، سوربیتول) با آب مقطر برای رسیدن به باریکس 70 درجه مخلوط شدند و جهت شفاف نمودن محلول از همزن مغناطیسی¹ و حرارت دادن استفاده شد (Noshad *et al.*, 2012).

روش عصاره‌گیری

برای تهیه عصاره از روش خیساندن استفاده شد، بدین صورت که 500 گرم علف لیمو آسیاب شده در 1000 میلی‌لیتر محلول هیدروالکی اتانول 75% غوطه‌ور گردید و به مدت 6 ساعت بر روی شیکر در دمای محیط قرار گرفت. عصاره فیلتر شده توسط روتاری (RV10D، SPARMAX، تایوان) تغلیظ و در فریز درایر (5005، دنا و کیوم، ایران) خشک گردید (win *et al.*, 2007).

تهیه محلول پوشش‌دهی

برای تهیه محلول کیتوزان 1% (w/v)، 1 گرم پودر خالص کیتوزان (وزن مولکولی متوسط، سیگما، آمریکا) به همراه 1% (v/v) استیک اسیدگلاسیال² (اطلس شیمی، ایران) در آب مقطر حل شد (Dutta *et al.*, 2009). این مخلوط توسط همزن مغناطیسی در دمای محیط برای مدت 4 ساعت بهم زده شد، سپس به مدت 15 دقیقه در دمای 121 درجه سانتی‌گراد استریل شد (Azevedo *et al.*, 2014). عصاره علف لیمو در سه سطح 0/5، 1 و 2 درصد (w/v) به پوشش حاصله افزوده شد. لیست تیمارهای اعمال شده در جدول 1 مشخص شده است.

بلانچینگ

به‌منظور جلوگیری از واکنش‌های قهوه‌ای شدن برش‌های تهیه شده در آب داغ 90 درجه سانتی‌گراد به مدت 3 دقیقه بلانچ شدند (Krokida *et al.*, 2000). سپس نمونه‌ها به مدت 2 دقیقه در محلول متابی‌سولفیت سدیم 1% (مرک، آلمان) غوطه‌ور شدند (Kingsly *et al.*, 2007).

روش آبیگری اسمزی و پوشش‌دهی

برش‌های میوه "به" در محلول‌های اسمزی شامل ساکاروز سوربیتول 70% به مدت 2 ساعت در دمای 50 درجه سانتی‌گراد آبیگری شدند (Noshad *et al.*, 2012). سپس برش‌های آبیگری شده به مدت 1 دقیقه در محلول کیتوزان حاوی (صفر، 0/5، 1 و 2 درصد عصاره علف لیمو) غوطه‌ور گردیدند. نمونه‌ها در ظروف شیشه‌ای (ارتفاع=1/5 سانتی‌متر، قطر=8 سانتی‌متر) بسته‌بندی شده و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 4 هفته نگهداری شدند (Chien *et al.*, 2007).

میوه‌های پردازش شده، نگهداری قفسه‌ای کوتاه‌تری نسبت به میوه و سبزی کامل دارند. همچنین مصرف‌کنندگان در سراسر جهان خواهان غذایی با کیفیت بالا و بدون نگهدارنده‌های شیمیایی هستند. بنابراین تلاش بیشتری برای کشف نگهدارنده‌های طبیعی و ضد میکروبی جدید صورت گرفته است. پوشش‌های خوراکی انتقال رطوبت، جذب اکسیژن، تنفس، تولید اتیلن را کاهش و نگهداری قفسه‌ای محصولات را افزایش می‌دهند (Elsabee *et al.*, 2013). کیتوزان به‌عنوان یک پوشش نیمه نفوذپذیر با تغییر دادن اتمسفر درونی و کم کردن سرعت تنفس، کیفیت میوه‌های برداشت شده را حفظ می‌کند (Zivanovic *et al.*, 2005). گیاه علف لیمو با نام علمی *Cymbopogon citratus* متعلق به خانواده گندمیان است. این خانواده حاوی 600 جنس و 9000 گونه است که به‌طور گسترده‌ای در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری دنیا پراکنده است. علف لیمو گیاهی است چندساله که به‌صورت توده‌های متراکم رشد می‌کند. ارتفاع آن تا 1/8 متر و قطر آن به حدود 1/2 متر می‌رسد. دارای ساقه‌های بلند و برگ‌های خشن، باریک و دراز به پهنای 2/5-1/3 سانتی‌متر و طول 90 سانتی‌متر است که در صورت شکسته شدن بویی شبیه عطر لیمو متضاد می‌کند (Chisowa *et al.*, 1998). این گیاه دارای فعالیت ضدباکتریایی قابل توجه است. عصاره متانولی برگ‌های علف لیمو اثر ضد میکروبی روی باکتری‌های پاتوژنی مخصوصاً باکتری‌های گرم مثبت دارد (Jafari *et al.*, 2012). Chien و همکاران (2007) دریافتند که پوشش خوراکی کیتوزان عمر نگهداری، اسیدیته قابل تیتراژ، میزان آسکوربیک اسید و ویژگی‌های کیفی برش‌های انبه را افزایش می‌دهد و همچنین از افت وزن و رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌کند. در پژوهش دیگری که Zhao و همکاران (2008) بر روی انبه انجام دادند، دریافتند که پوشش کیتوزان باعث تأخیر در رسیدن و کاهش پوسیدگی در طول دوره نگهداری می‌شود. نتایج Jafari و همکاران (2012) نشان داد که خصوصیت ضد میکروبی عصاره متانولی به دلیل حضور متابولیت‌های ثانویه فلاونوئیدی، ترپن‌ها و ساپونین‌ها می‌باشد. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر پوشش کیتوزان حاوی عصاره متانولی علف لیمو بر افزایش عمر نگهداری و کاهش فسادپذیری میوه "به" انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه

میوه "به" تازه از نجف‌آباد تهیه گردید و تا روز آزمایش در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. مراحل آماده‌سازی برش‌های میوه به شامل شستشو، پوست‌گیری (دستی)، برش (با استفاده از قالب استوانه‌ای شکل) می‌باشد. قطر نمونه‌ها 20 میلی‌متر و ضخامت آن‌ها 10 میلی‌متر انتخاب شد (Akbarian *et al.*, 2015).

با دقت 0/001 گرم اندازه‌گیری شد. درصد افت وزن از رابطه 1 محاسبه شد (Ali et al., 2011).

$$\text{weight loss} = \frac{W_0 - W_t}{W_0} \times 100 \quad (1)$$

وزن اولیه نمونه، W_0 و وزن نمونه در بازه زمانی

اندازه‌گیری پارامترهای کیفی

اندازه‌گیری درصد افت وزن

برش‌های به در روز صفر و در پایان هر بازه زمانی نگهداری (7 روز یک‌بار)، توزین گردیدند. کاهش وزن میوه‌ها به کمک ترازوی دیجیتالی

جدول 1- تیمارهای به کار رفته در آزمایش

ردیف	محلول اسمزی	پوشش
1	ساکارز	بدون پوشش
2	سوربیتول	بدون پوشش
3	ساکارز	پوشش کیتوزان
4	سوربیتول	پوشش کیتوزان
5	ساکارز	پوشش کیتوزان حاوی 0/5% عصاره
6	سوربیتول	پوشش کیتوزان حاوی 0/5% عصاره
7	ساکارز	پوشش کیتوزان حاوی 1% عصاره
8	سوربیتول	پوشش کیتوزان حاوی 1% عصاره
9	ساکارز	پوشش کیتوزان حاوی 2% عصاره
10	سوربیتول	پوشش کیتوزان حاوی 2% عصاره

اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتر (TA)¹

برای تعیین اسیدیته، همگی حجم عصاره برش میوه به در حضور معرف فنل فتالین، با استفاده از سود 0/1 نرمال تیتر گردید و بر اساس اسید مالیک، طبق رابطه 2 محاسبه گردید (عابدیان و همکاران، 1397).

$$\text{Acidity} = \frac{N \times V \times E \times 100}{M} \quad (2)$$

N نرمالیه سود مصرفی، V حجم سود مصرفی، E اکی‌ولانس گرم اسید آلی غالب و M وزن نمونه بر حسب گرم

اندازه‌گیری pH

برش‌های میوه به با آب مقطر هموزن و سپس از کاغذ صافی عبور داده شدند. برای تعیین مقدار pH از pH متر استفاده گردید (Yurdugul., 2005).

اندازه‌گیری میزان اسید آسکوربیک

برای اندازه‌گیری غلظت اسید آسکوربیک از روش تیتراسیون با محلول 6، 2-دی کلرواندوفنل استفاده شد. نتایج به صورت میلی‌گرم آسکوربیک اسید در هر صد گرم نمونه بیان شد. مقدار ویتامین ث از رابطه 3 به دست آمد (Yurdugul., 2005).

$$\text{vit C} = \frac{A \times B \times 100}{C \times M} \quad (3)$$

A میزان عصاره حاصل از نمونه، B اندوفنل مصرفی برای نمونه، C اندوفنل مصرفی برای استاندارد، M وزن نمونه بر حسب گرم

اندازه‌گیری فنول کل

با استفاده از روش فولین-سیوکالتو انجام شد. 50 گرم نمونه همگن شده به مدت 15 دقیقه سانتیفریژ شد. 0/5 میلی‌لیتر از محلول رویی به 0/5 میلی‌لیتر محلول فولین (رقیق شده به میزان 10 برابر) اضافه شد، بعد از 3 دقیقه واکنش، 10 میلی‌لیتر محلول اشباع سدیم کربنات اضافه گردید و با آب مقطر به حجم 25 میلی‌لیتر رسید. نمونه‌ها به مدت 1 ساعت در تاریکی قرار داده شدند و سپس توسط اسپکتروفتومتر با طول موج 725 نانومتر جذب نوری خوانده شد. نتایج بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در 100 گرم برش به گزارش گردید (Oms-Oliu et al., 2008). منحنی استاندارد با استفاده از اسید گالیک استاندارد تهیه گردید.

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه از طریق خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH² تعیین گردید. ابتدا برای تهیه عصاره 1 گرم از برش میوه به با 3 میلی‌لیتر محلول هیدروالکی اتانول 80% هموزن گردید و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد، از این عصاره 0/1 میلی‌لیتر برداشته و با 3/9 میلی‌لیتر DPPH اتانولی (0/025 گرم بر لیتر) و 0/09 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. مخلوط مورد نظر به شدت هم‌زده و در دمای اتاق به مدت 30 دقیقه در تاریکی نگهداری شد. برای شاهد به جای عصاره میوه به از محلول هیدروالکی اتانول استفاده شد. جذب نمونه‌ها

2 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

1 Titratable Acidity

نتایج و بحث

درصد افت وزن

همانطور که در جدول 2 نشان داده شده است کاهش وزن برش‌های میوه به‌طور معناداری تحت تأثیر زمان نگهداری، محلول اسمزی و پوشش می‌باشد ($p < 0/05$). تأثیر متغیرهای مستقل بر درصد کاهش وزن میوه به‌طور معنادار در شکل 1 نشان داده شده است. بیشترین کمترین میزان افت وزن به‌ترتیب، در نمونه شاهد (بدون پوشش) و نمونه پوشش داده شده با کیتوزان حاوی 2 درصد عصاره علف لیمو مشاهده شد. Yaman و Bayoindirl (2002) گزارش کردند که کاهش وزن میوه‌ها، به دلیل از دست دادن آب ناشی از فرآیندهای تنفس و تعرق می‌باشد. وزن کم سوربیتول نسبت به ساکارز موجب افزایش جذب مواد جامد، انسداد منافذ بافت میوه و تشکیل یک لایه غلیظ جامد در سطح میوه می‌شود که از خروج آب در طی زمان نگهداری جلوگیری می‌کند (Mandala et al., 2005). به دلیل نقش عصاره در جلوگیری از پوسیدگی و ایجاد غشاء نیمه‌تراوا توسط پوشش کیتوزان، افت وزن کاهش یافت (Yossef, 2014).

اسیدیته قابل تیتر و pH

طبق جدول 2 اثر اصلی متغیرها بر تغییرات اسیدیته و pH میوه به معنی‌دار بوده است ($p < 0/05$). همان‌طور که در شکل 2 نشان می‌دهد در طی چهار هفته نگهداری اسیدیته نمونه کاهش پیدا کرد. افزودن پوشش کیتوزان حاوی عصاره به نمونه موجب افزایش اسیدیته نسبت به شاهد گردید. در هنگام رسیدن و افزایش فعالیت‌های سوخت‌وساز، اسیدهای آلی میوه کاهش پیدا می‌کنند و محتوای قندهای محلول میوه را بالا می‌برند. آبگیری اسمزی توسط سوربیتول با افزایش مواد جامد جذب شده، افزایش خروج آب در طی فرآیند اسمزی، غلظت اسید را افزایش می‌دهد (قلی‌زاده و همکاران، 2016). پوشش‌های خوراکی حاوی عصاره با تغییر اتمسفر درونی و تأخیر در مصرف اسیدهای آلی در واکنش‌های متابولیکی از جمله تنفس موجب حفظ بهتر اسیدهای آلی می‌شوند. عصاره علف لیمو به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده و تأخیر در مصرف اسیدهای آلی در واکنش‌های متابولیکی از جمله تنفس می‌شود. با افزایش غلظت عصاره تأثیر آن بیشتر می‌گردد (Galviz-Sanchez et al., 2003).

اسید آسکوربیک

همانطور که در جدول 2 مشهود است میزان آسکوربیک اسید برش‌های میوه به‌طور معناداری تحت تأثیر زمان نگهداری، محلول اسمزی و پوشش می‌باشد ($p < 0/05$). مطابق شکل 3، در طی بازه زمانی نگهداری میزان ویتامین C کاهش یافت که ناشی از افزایش اکسیداسیون حاصل از کاهش آب است (Shin et al., 2007). علاوه

با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج 515 نانومتر اندازه‌گیری شد (Kou et al., 2014). نتایج طبق رابطه 4 محاسبه گردید.

$$AA\% = \left[\left(1 - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \times 100 \right] \quad (4)$$

AA% درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، Ac جذب شاهد، As جذب نمونه می‌باشد.

اندازه‌گیری رنگ با استفاده از محفظه‌ی نوری

برای تصویرگیری از اتاقکی به شکل دوزنقه با اندازه قاعده بزرگ 80 سانتی‌متر، ارتفاع 32 سانتی‌متر و قطر 20 سانتی‌متر به رنگ سفید استفاده شد تا بازتاب نور در فضا ایجاد نشود. برای ایجاد نور از دو لامپ فلورئورسنت با زاویه 45 استفاده شد. تصویرگیری با استفاده از دوربین Canon مدل Powershot SX40 HS انجام شد. نمونه‌ها با فرمت JPEG ذخیره شد و در فضای رنگی RGB به کمک نرم‌افزار Image J (bundled with 64 bit java 1.6.0.20-1.46r) J a*، آنالیز شد. مقدار رنگ با استفاده از مقادیر L* (روشنایی)، (قرمزی - سبزی) و b* (زردی - آبی) بیان شد (Yam et al., 2004). شاخص شدت رنگ قهوه‌ای (BI) طبق رابطه 5 محاسبه شد (Guerreiro et al., 2017).

$$BI = \frac{[100(X-0.31)]}{0.172} \quad (5)$$

که مقدار X برابر است با:

$$X = [a^* + (1.75L^*) / (5.645L^*) + a^*_{-} (3.012b^*)] \quad (6)$$

آزمون بافت‌سنجی

ارزیابی سفتی بافت توسط دستگاه بافت‌سنج (STM-20، SANTAM، ایران) صورت گرفت. در این آزمون از پروپ استوانه‌ای 36 میلی‌متری با سرعت 50 میلی‌متر بر دقیقه و مقدار نیروی (50- صفر نیوتن)، که نمونه را تا رسیدن به تغییر شکل 40 درصدی فشرده می‌کند، استفاده شد. بیشینه نیروی مورد نیاز (نیوتن) برای ایجاد تغییر شکل برای نمونه‌های مختلف محاسبه شد (اکبری‌ان و همکاران، 1392).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

متغیرها شامل 2 نوع محلول اسمزی (ساکارز 70٪، سوربیتول 70٪) و 5 نوع پوشش (پوشش کیتوزان حاوی صفر، 0/5، 1 و 2 درصد عصاره علف لیمو) می‌باشند. خصوصیات تیمارها در طی 4 زمان (هفته اول، دوم، سوم و چهارم) بررسی گردید. از طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. جداول و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید.

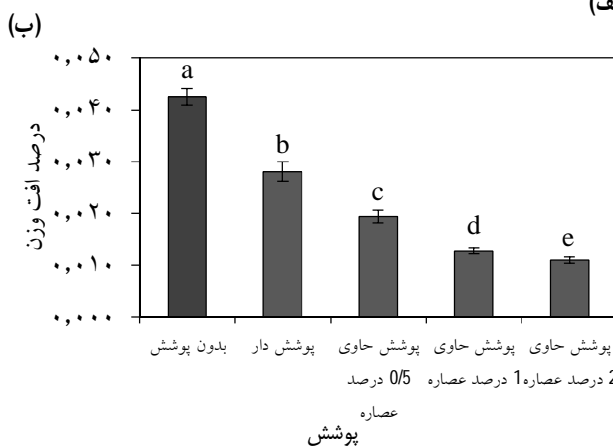
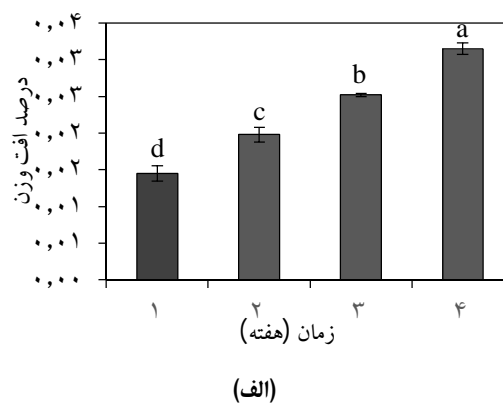
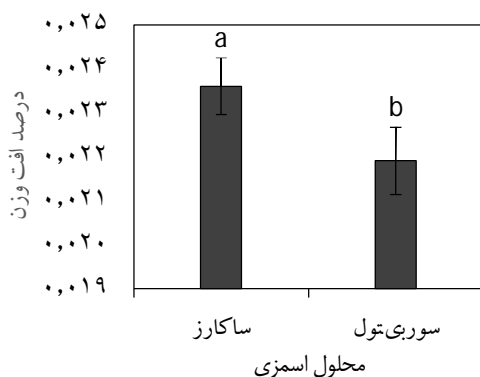
حاوی 2 درصد عصاره علف لیمو مشاهده گردید. پوشش کیتوزان با ایجاد اتمسفر اصلاح شده موجب کاهش از دست دادن ویتامین ث می گردد (Ayranci *et al.*, 2004). با افزایش غلظت عصاره ترکیبات فنولی آن بیشتر شده، در نتیجه خاصیت آنتی اکسیدانی آن بیشتر می گردد و موجب حفظ ویتامین ث می شود (Lagouri *et al.*, 1996).

بر اکسیداسیون، افزایش pH در اثر فعالیت آنزیمی می تواند سبب نابودی ویتامین شود (Chiumarelli *et al.*, 2011).
 آبدگیری اسمزی با سوربیتول به دلیل نفوذ راحت تر به سطح میوه و انسداد منافذ بافت موجب حفظ بیشتر میزان ویتامین ث گردید (Eren *et al.*, 2007). نتایج با Moura و همکاران (2005) مطابقت داشت. بیشترین غلظت اسید آسکوربیک در نمونه پوشش دهی شده با کیتوزان

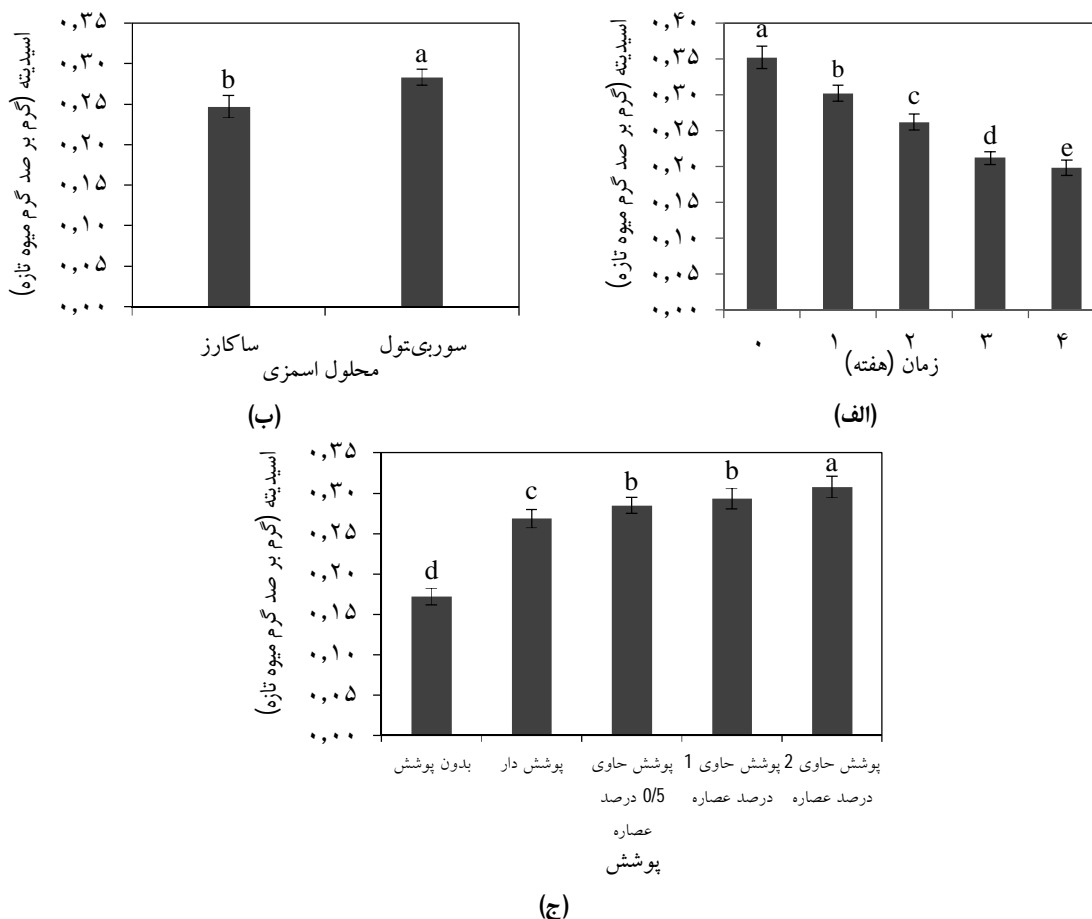
جدول 2- اثر تیمارهای آزمایشی بر کاهش وزن، اسیدیته قابل تیتر، pH، غلظت اسید آسکوربیک، فنول کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه به

منبع تغییرات	درجه آزادی	کاهش وزن (%)	اسیدیته قابل تیتر (%)	pH	اسید آسکوربیک	فنول کل	ظرفیت آنتی اکسیدانی
زمان	4	0/01**	0/121**	0/082**	235/208**	281/239**	1431/927**
پوشش	1	0/03**	0/088**	0/401**	23/947**	359/223**	1556/250**
محلول	1	0/0000555**	0/049**	0/069**	79/935**	188/332**	180/747**

* و ** به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح 5% و 1% است.



شکل 1- نمودار (الف) تأثیر زمان نگهداری، (ب) تأثیر محلول اسمزی و (ج) تأثیر پوشش بر تغییرات درصد کاهش وزن میوه به

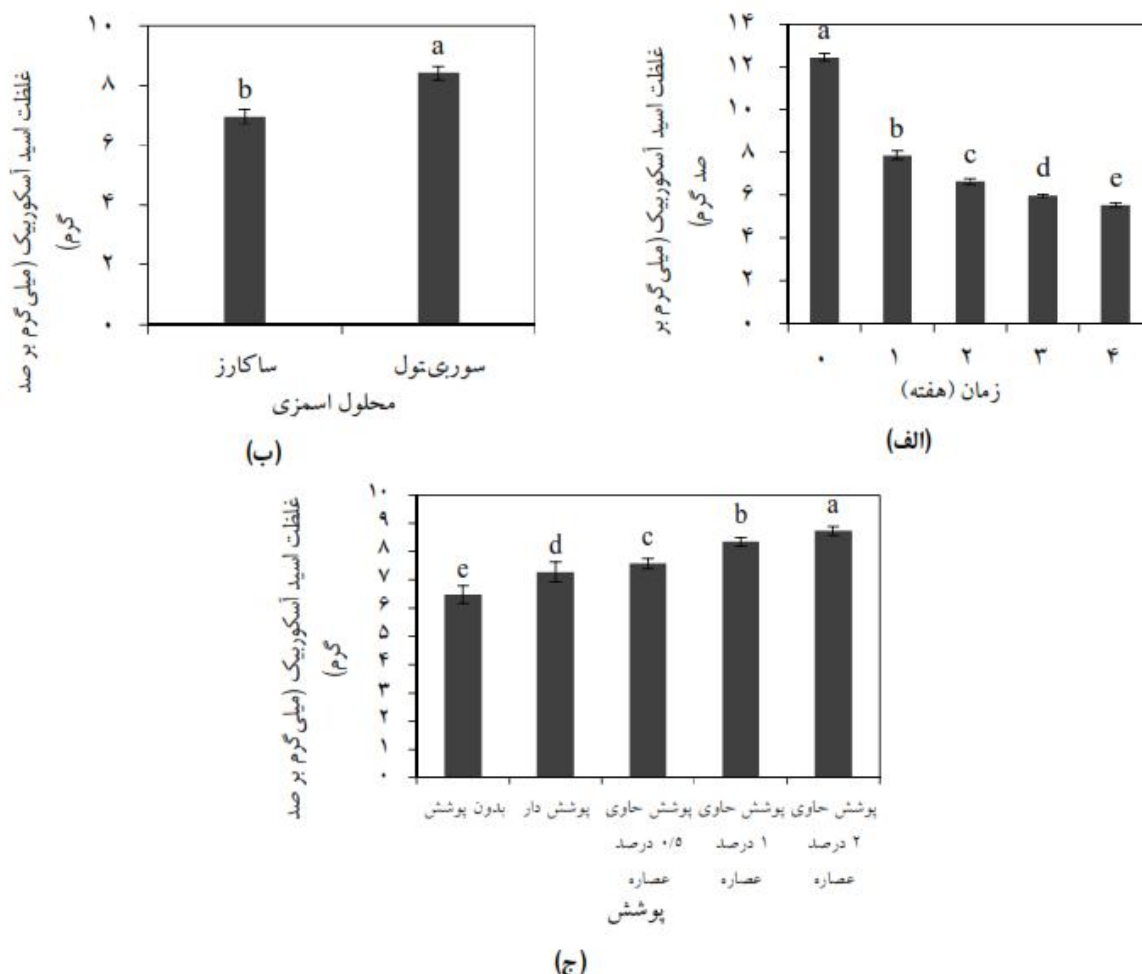


شکل 2- نمودار (الف) تأثیر زمان نگهداری، (ب) تأثیر محلول اسمزی و (ج) تأثیر پوشش بر تغییرات اسیدیتنه قابل تیتر میوه به

شده موجب کاهش سرعت تنفس و با کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز میزان واکنش‌های اکسیداسیونی فنول‌ها را کاهش می‌دهند. Zhang و همکاران (1997) تأخیر در افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در میوه لیچی پوشش داده شده با کیتوزان را بیان کردند. مطالعات نشان می‌دهند که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از عصاره‌ها از جمله عصاره‌های قطبی می‌باشد (Bahramikia et al., 2008). با اتکاء به این مطلب، بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره علف لیمو به دلیل بالا بودن ترکیبات فنولی آن است و بیشترین میزان ترکیبات فنولی در تیمار پوشش‌دهی شده با کیتوزان حاوی 2 درصد عصاره علف لیمو مشاهده گردید.

فنول کل

همانطور که در جدول 2 نشان داده شده است میزان ترکیبات فنولیک به‌طور معناداری تحت تأثیر زمان نگهداری، محلول اسمزی و پوشش می‌باشد ($p < 0/05$). با توجه به شکل 4 می‌توان مشاهده کرد که در طی چهار هفته نگهداری ترکیبات فنولیک نمونه کاهش پیدا کرد. پوشش‌دهی با کیتوزان حاوی عصاره موجب افزایش و پایداری ترکیبات فنولیک نمونه گردید. کاهش ترکیبات فنولی در پایان زمان انبارمانی ممکن است به دلیل شکستن ساختار سلولی در اثر پیری میوه‌ها باشد (Macheix et al., 1990). سوربیتول به دلیل وزن مولکولی کمتر نسبت به محلول اسمزی ساکارز نفوذ راحت‌تری به سطح میوه دارد. بنابراین منجر به انسداد منافذ بافت میوه و حفظ ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند آسکوربیک اسید و ترکیبات فنولیک و... می‌گردد (Eren et al., 2007). پوشش‌های خوراکی با ایجاد اتمسفر اصلاح



ظرفیت آنتی اکسیدانی همانطور که در جدول 2 مشهود است، اثر اصلی متغیرها بر تغییرات فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد (RSA)¹ میوه به معنی دار بوده است ($p < 0/05$). مطابق شکل 5، در طی چهار هفته نگهداری RSA نمونه کاهش پیدا کرد. آبیگری اسمزی با سوربیتول نسبت به محلول ساکارز موجب حفظ RSA نمونه گردید. بیشترین میزان RSA در نمونه پوشش دهی شده با کیتوزان حاوی 2 درصد عصاره علف لیمو مشاهده شد کاهش فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد طی مدت زمان نگهداری ممکن است به دلیل افزایش تنش اکسیداتیو و پوسیدگی میوه باشد (Petriccion *et al.*, 2015). همبستگی مثبتی بین فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد و ترکیبات فنولی گزارش شده است. بنابراین بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی می تواند با بیشترین ترکیبات فنولی همراه باشد

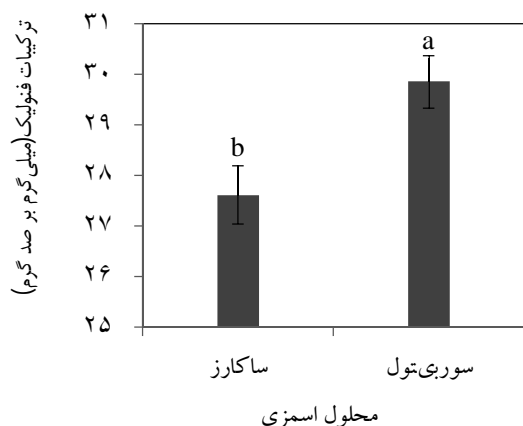
بهبود کیفیت میوه می تواند به دلیل کاهش ترکیبات فنولی و اسید آسکوربیک طی مدت زمان نگهداری باشد که در این پژوهش اتفاق افتاد. به دلیل حفظ بیشتر ترکیبات فنولیک توسط سوربیتول، آبیگری اسمزی با سوربیتول موجب افزایش فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد گردید. پوشش کیتوزان با ایجاد اتمسفر تعدیل یافته و کاهش تنفس و تعرق میوه، موجب حفظ آسکوربیک اسید و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی می گردد (Xing *et al.*, 2011). فعالیت آنتی اکسیدانی علف لیمو به اثبات رسیده و معادل بوتیل هیدروکسی تولوئن عمل می کند (Baratta *et al.*, 1998). بین ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره ها در غلظت های مختلف اختلاف معنی داری وجود داشته و به عبارت دیگر میزان اثر آنتی اکسیدانی وابسته

به غلظت می‌باشد و با افزایش غلظت خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز بالاتر می‌رود (Baratta et al., 1998).

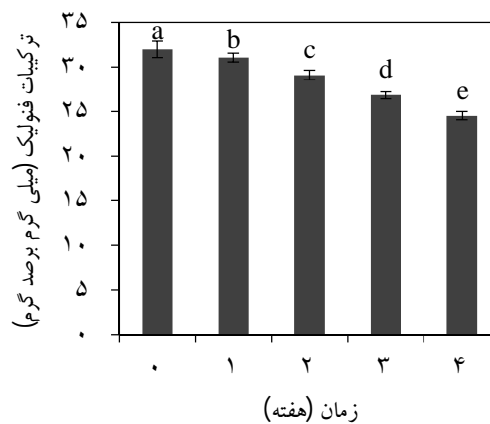
بافت

طبق جدول 3 اثر اصلی محلول اسمزی ($p < 0/01$) و پوشش ($p < 0/05$) بر تغییرات سختی بافت معنی دار بوده است. تأثیر متغیرهای مستقل بر بافت میوه به در شکل 6 نشان داده شده است. فرآیند اسمز، بافت محصول را نرم‌تر می‌کند، که علت آن را می‌توان به اثر پلاستی‌سایزری (نرم‌کنندگی) مواد قندی و اسیدی جذب شده از محلول اسمزی به بافت میوه، نسبت داد (Krohida et al., 2000). نمونه‌های

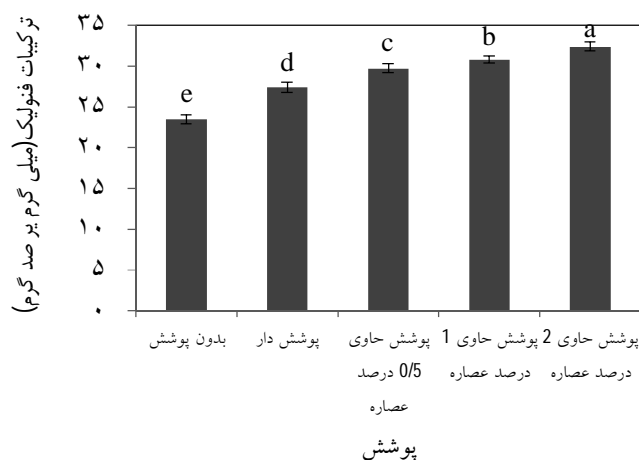
آبگیری شده با سوربیتول به دلیل محتوای رطوبتی پایین‌تر، بافت شیشه‌ای پیدا می‌کنند (Konopacka et al., 2009). در به پوشش داده شده با کیتوزان میزان نرم‌شدگی به دلیل تنفس کمتر و در نتیجه فعالیت آنزیمی کمتر میوه محسوس نبوده است. نتایج با صحرایی و همکاران (1393) بر روی سیب گلاب مطابقت داشت. علت آن می‌تواند به دلیل آبگیری اسمزی قبل از فرآیند پوشش دهی باشد که تا حدودی موجب بهبود کیفیت بافت شده است (Islam et al., 1982). با افزایش غلظت علف لیمو به دلیل تأثیر علف لیمو روی سلول‌های بافت میوه سختی بافت کاهش پیدا می‌کند (Azarakhsh et al., 2014).



(ب)

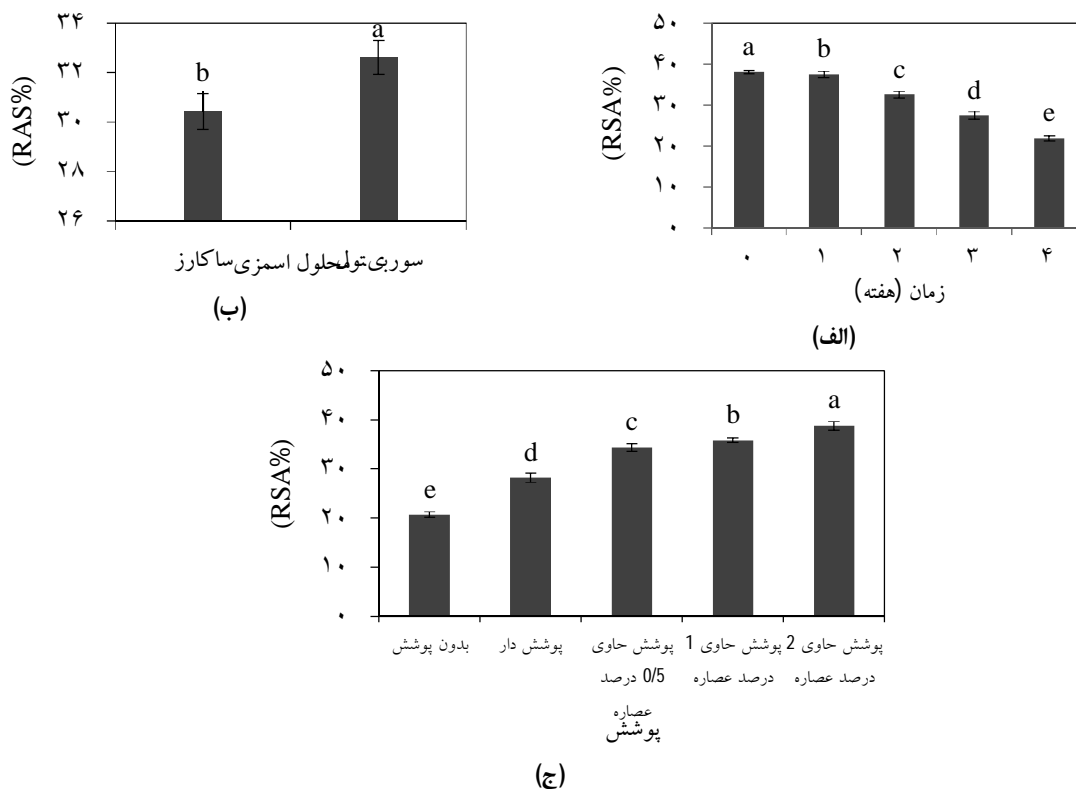


(الف)



(ج)

شکل 4- نمودار (الف) تأثیر زمان نگهداری، (ب) تأثیر محلول اسمزی و (ج) تأثیر پوشش بر تغییرات فنول کل میوه به

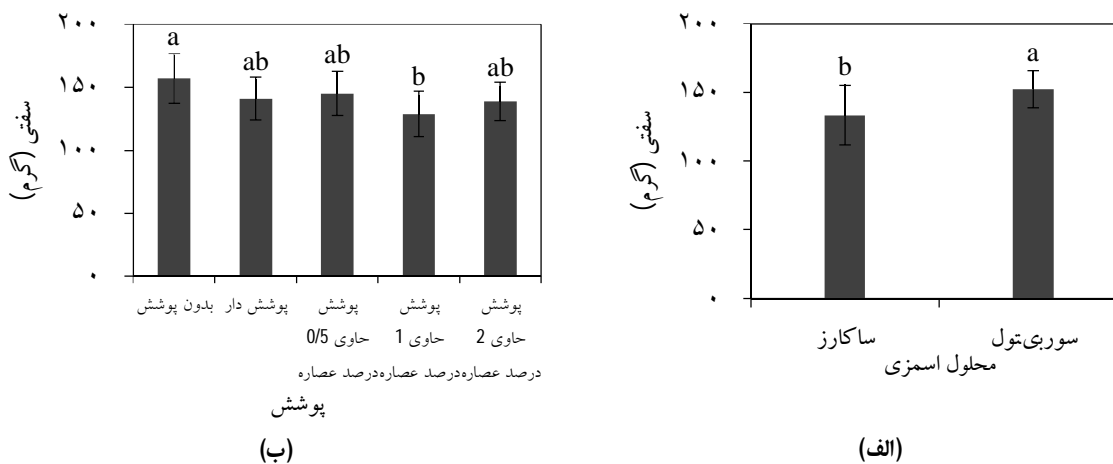


شکل 5- نمودار (الف) تأثیر زمان نگهداری، (ب) تأثیر محلول اسمزى و (ج) تأثیر پوشش بر تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه به

جدول 3- اثر تیمارهای آزمایشی بر تغییرات سفیدی بافت و رنگ ($Hue, BI, C, b^*, a^*, L^*$) میوه به

BI	b*	a*	L*	سفیدی بافت	درجه آزادی	منبع تغییرات
4802/082**	457/127**	0/262	40/777**	618/065	4	زمان
4088/225**	241/943**	12/432**	84/577**	3065/287*	4	پوشش
2019/234**	541/500**	2/802	15/360	14455/042**	1	محلول

* و ** به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح 5% و 1% است

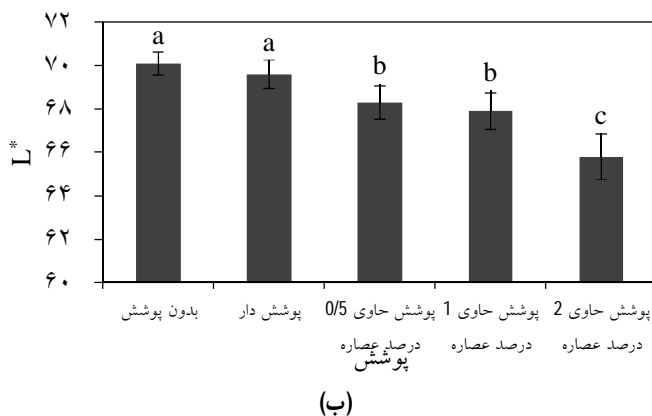
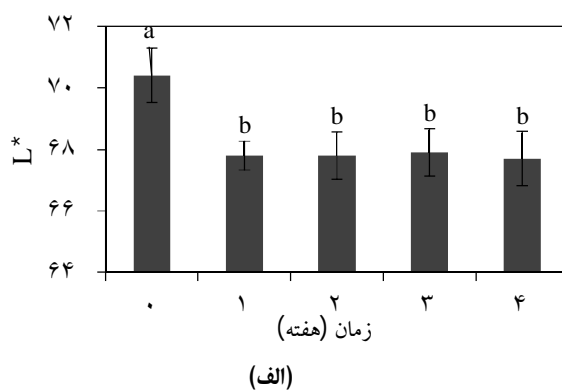


شکل 6- نمودار (الف) تأثیر محلول اسمزى و (ب) تأثیر پوشش بر تغییرات بافت میوه به

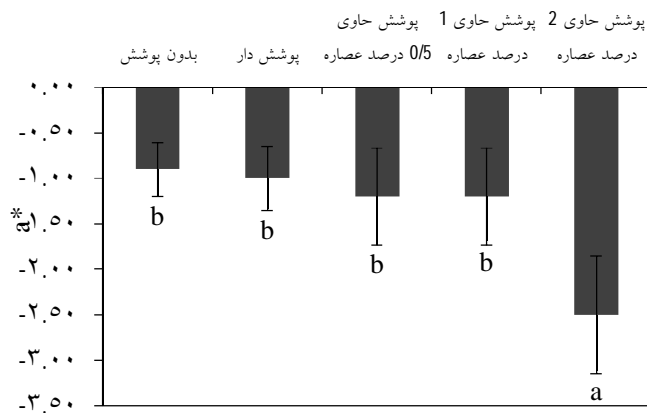
رنگ

برای اندازه‌گیری شدت رنگ، هر یک از پارامترهای L^* ، a^* ، b^* ، BI برای هر تیمار تعیین شد. در جدول 3 این مقادیر مشخص شده است. با توجه به داده‌ها میزان L^* نسبت به روز نخست کاهش و پارامترهای a^* و b^* روند افزایشی دارد. بدین معنا که با گذر زمان بر سبزی و زردی محصول افزوده شده و از قرمزی و آبی بودن آن کم می‌گردد. ضریب BI نشان‌دهنده فعالیت آنزیم قهوه‌ای شدن می‌باشد که روند افزایشی داشته است. پوشش‌های خوراکی می‌توانند با کاهش تماس اکسیژن با بافت میوه‌ها پیشرفت واکنش قهوه‌ای شدن را به تأخیر اندازند. قبل از فرآیند پوشش‌دهی بلانچینگ و آبیگری اسمزی موجب غیر فعال‌سازی آنزیم‌های مربوطه شده است. بنابراین در به پوشش داده شده با کیتوزان میزان تغییرات رنگ به دلیل تنفس کمتر و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های محسوس نبوده است. افزایش غلظت عصاره علف لیمو موجب کاهش روشنایی، قرمزی و افزایش سبزی میوه

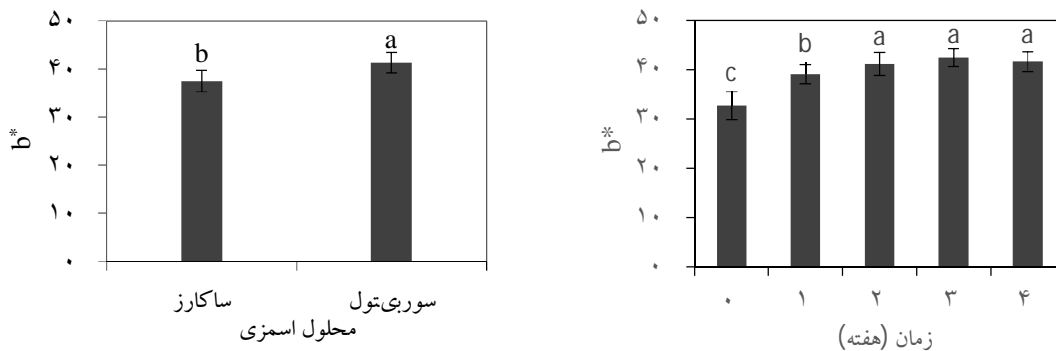
په شده است که علت آن رنگ عصاره می‌باشد. به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و همچنین ممانعت از ورود اکسیژن به داخل بافت میوه توسط پوشش کیتوزان، میزان تغییرات رنگ در میوه‌های پوشش داده کمتر مشاهده شد. با توجه به ساختار شیمیایی سوربیتول، این قند به‌طور فعال‌تری در تشکیل رنگ و تغییر شاخص‌های رنگ شرکت می‌کند (شهیدی و همکاران، 1390). با اتکاء به این مطلب میوه به آبیگری شده با سوربیتول b^* بالاتری نسبت به ساکارز دارد. به پوشش‌دهی شده b^* بالاتری دارد و میزان زردی نمونه افزایش پیدا کرده است (Akbarian *et al.*, 2014). با افزایش شدت روشنایی (L^*) و کاهش شدت سبزی (a^*) و زردی (b^*) در نمونه‌ها، قهوه‌ای شدن کم‌تر اتفاق می‌افتد (قویدل و همکاران، 1390). با اتکاء به این مطلب با کاهش شدت روشنایی، افزایش سبزی و زردی در طی مدت زمان نگهداری میزان قهوه‌ای شدن افزایش یافت.



شکل 7- نمودار (الف) تأثیر زمان نگهداری و (ب) تأثیر پوشش بر تغییرات L^* میوه په

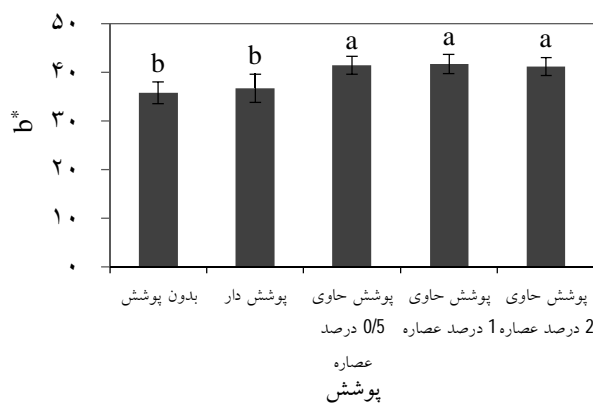


شکل 8-نمودار (الف) تأثیر پوشش بر تغییرات a^* میوه به



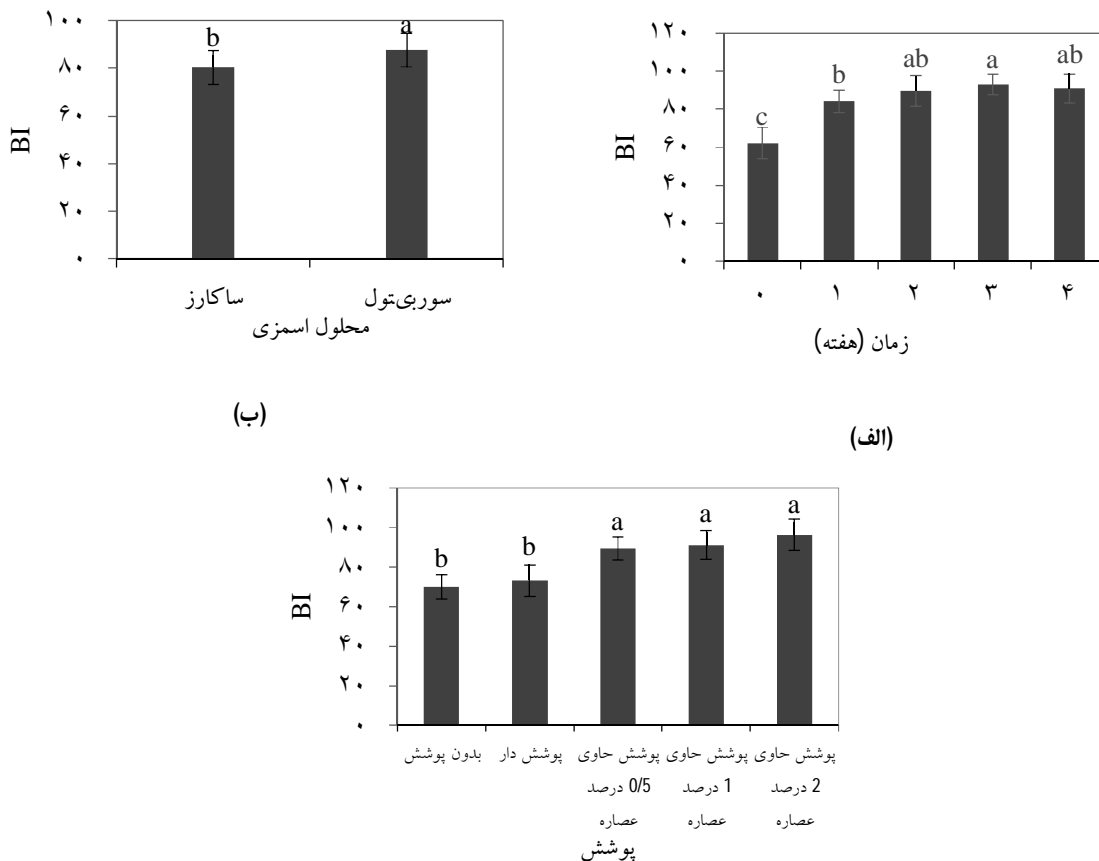
(ب)

(الف)



(ج)

شکل 9-نمودار (الف) تأثیر زمان نگهداری، (ب) تأثیر محلول اسمزی و (ج) تأثیر پوشش بر تغییرات b^* میوه به



شکل 10- نمودار (الف) تأثیر زمان نگهداری، (ب) تأثیر محلول اسمزی و (ج) تأثیر پوشش بر تغییرات BI میوه به

میوه محسوس نبوده است. با افزایش غلظت علف لیمو به دلیل تأثیر روی سلول‌های بافت میوه، سفتی بافت کاهش پیدا کرد. این پوشش بر روی رنگ مؤثر است و در طول زمان با تأثیر بر عملکرد آنزیم‌ها، قهوه‌ای شدن را به تعویق می‌اندازد. در این پژوهش نمونه آبیگری شده با سوربیتول و پوشش‌دهی شده با پوشش کیتوزان حاوی 2 درصد عصاره علف لیمو به عنوان نمونه برتر شناخته شد. با مرور بر نتایج بدست آمده طی این تحقیق مشخص شد که پوشش کیتوزان به همراه عصاره علف لیمو سبب افزایش ماندگاری برش‌های به می‌گردد

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد پوشش کیتوزان حاوی عصاره علف لیمو قادر است روند تغییرات کاهش وزن را آهسته کند، سبب بقای اسید آسکوربیک، افزایش ترکیبات فنولیک، پایداری آن‌ها در طی زمان و همچنین فعالیت بهتر بازدارندگی رادیکال آزاد گردد. این پوشش با تغییر اتمسفر درونی و کاهش سرعت تنفس میوه موجب حفظ بهتر اسیدهای آلی گردید. با توجه به نتایج مربوط به آنالیز بافت، میزان نرم‌شدگی به پوشش داده شده با کیتوزان به دلیل تنفس کمتر و در نتیجه فعالیت آنزیمی کمتر

منابع

- احمدزاده قویدل، ر.، تنوری، ط.، قیافه داوودی، م.، شیخ الاسلامی، ز.، عباسی، م.، 1390، تأثیر پوشش‌های خوراکی ایزوله پروتئین سویا، کنسانتره پروتئین آب پنیر، کاراگینان و آلژینات در افزایش ماندگاری سیب درختی. همایش ملی صنایع غذایی، قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، 9-10 اسفند.
- اکبریان، م.، قنبرزاده، ب.، دهقان نیا، ج.، صوتی خیابانی، م.، 1392، بهینه‌سازی محلول اسمزی و بررسی اثرات آبیگری اسمزی بر ویژگی‌های بافتی و رنگی میوه (به)) فرآیند شده با پوشش‌های پلی‌ساکاریدی فعال. پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، دوره 9، شماره 2: 165-174.

- شهیدی، ف.، محبی، م.، نوشاد، م.، احتیاطی، ا.، فتحی، م.، 1390، بررسی تأثیر بیش تیمار اسمز و فراصوت بر برخی ویژگی‌های کیفی موز خشک شده به روش هوای داغ. پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، سال هفتم، شماره 4: 263-272.
- صحرائی خوش گردش، ع.، فوزان، ب.، یاسینی اردکانی، ع.، 1393، تأثیر پوشش نانومولسیون حاوی کیتوزان بر افزایش ماندگاری سیب گلاب رقم گلاب کهنز در مدت انبارداری. مهندسی بیوسیستم ایران (علوم کشاورزی ایران)، دوره 45، شماره 2: 113-120.
- عابدیان، م.، ضیاء الحق، س.ح.ر.، نجفی، ع.، 1397، اثر پوشش خوراکی کیتوزان، آلزینات سدیم و کنسانتره پروتئین آب پنیر بر ماندگاری زردآلوی رقم رجعلی. پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، سال چهاردهم، شماره 2: 307-320.
- قلی زاده، پ.، قنبرزاده، ب.، 1395، اثرات جایگزینی قندهای گلوکز و ساکارز با قندهای سوربیتول و فروکتوز در آبگیری اسمزی انگور شاهرودی پوشش داده شده. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال یازدهم، شماره 3: 63-74.
- Akbarian, M., Ghanbarzadeh, B., Sowti, M., Dehghannya, J., 2015, Effects of Pectin-CMC-Based Coating and Osmotic Dehydration Pretreatments on Microstructure and Texture of the Hot-Air Dried Quince Slices. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(3), 260-269.
- Akbarian, M., Ghasemkhani, N., Moayedi, F., 2014a, Osmotic dehydration of fruits in food industrial: a review. *Int J Biosci*, 4(1), 42-57.
- Ali, A., Muhammad, M.T.M., Sijam, K., Siddiqui, Y., 2011, Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Ekotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food chemistry*, 124(2), 620-626.
- Ayranci, E., Tunc, S., 2004, The effect of edible coatings on water and vitamin C loss of apricots (*Armeniaca vulgaris* Lam.) and green peppers (*Capsicum annuum* L.). *Food chemistry*, 87(3), 339-342.
- Azarakhsh, N., Osman, A., Ghazali, H.M., Tan, C.P., Adzahan, N.M., 2014, Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple. *Postharvest Biology and Technology*, 88(1), 1-7.
- Azevedo, A.N., Buarque, P.R., Cruz, E.M.O., Blank, A.F., Alves, P.B., Nunes, M.L., de Aquino Santana, L.C.L., 2014, Response surface methodology for optimisation of edible chitosan coating formulations incorporating essential oil against several foodborne pathogenic bacteria. *Food Control*, 43, 1-9.
- Bagheri, M., Esna-Ashari, M., Ershadi, A., 2015, Effect of postharvest calcium chloride treatment on the storage life and quality of persimmon fruits (*Diospyros kaki* Thunb.) cv. 'Karaj'. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 2(1), 15-26.
- Bahramikia, S., Yazdanparast, R., 2008, Antioxidant and free radical scavenging activities of different fractions of Anethum graveolens leaves using in vitro models. *Pharmacol online*, 2, 219-233.
- Baratta, M.T., Dorman, H.D., Deans, S.G., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Ruberto, G., 1998, Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and fragrance journal*, 13(4), 235-244.
- Chien, P.J., Sheu, F., Yang, F.H., 2007, Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 225-229.
- Chisowa, E.H., Hall, D.R., Farman, D.I., 1998, Volatile constituents of the essential oil of *Cymbopogon citratus* Stapf grown in Zambia. *Flavour and Fragrance Journal*, 13, 29-30.
- Chiumarelli, M., Ferrari, C.C., Sarantópoulos, C.I., Hubinger, M.D., 2011, Fresh cut 'Tommy Atkins' mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch or sodium alginate. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(3), 381-387.
- Dutta, P., Tripathi, S., Mehrotra, G., Dutta, J., 2009, Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food chemistry*, 114(4), 1173-1182.
- Elsabee, M.Z., Abdou, E.S., 2013, Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 33(4), 1819-1841.
- Eren, I., Kaymak-Ertekin, F., 2007, Optimization of osmotic dehydration of potato using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 79(1), 344-352.
- Galvis-Sánchez, A., Fonseca, S., Morais, A., Malcata, F., 2003, Physicochemical and sensory evaluation of 'Rocha' pear following controlled atmosphere storage. *Journal of food science*, 68(1), 318-327.
- Gothandapani, L., Parvathi, K., John Kennedy, Z., 1997, Evaluation of different methods of drying on the quality of oyster mushroom (*Pleurotus* sp). *Drying Technology*, 15(6-8), 1995-2004.
- Guerreiro, A.C., Gago, C.M., Faleiro, M.L., Miguel, M.G., Antunes, M.D., 2017, The effect of edible coatings on the nutritional quality of 'Bravo de Esmolfe' fresh-cut apple through shelf-life. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 210-219.
- Islam, M. & Flink, J., 1982, Dehydration of potato: II. Osmotic concentration and its effect on air drying behaviour. *International Journal of Food Science & Technology*, 17(3), 387-403.
- Jafari, B., Ebadi, A., Aghdam, B.M., Hassanzade, Z., 2012, Antibacterial activities of lemon grass methanol extract and essence on pathogenic bacteria. *American-Eurasian J Agri Environ Sci*, 12, 2.

- Kingsly, R.P., Goyal, R.K., Manikantan, M.R., Ilyas, S.M., 2007, Effects of pretreatments and drying air temperature on drying behaviour of peach slice. *International journal of food science & technology*, 42(1), 65-69.
- Konopacka, D., Jesionkowska, K., Klewicki, R., Bonazzi, C., 2009, The effect of different osmotic agents on the sensory perception of osmo-treated dried fruit. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(6), 80-84.
- Kou, X.H., Guo, W.L., Guo, R.z., Li, X.y., Xue, Z.h., 2014, Effects of chitosan, calcium chloride, and pullulan coating treatments on antioxidant activity in pear cv. "Huang guan" during storage. *Food and bioprocess technology*, 7(3), 671-681.
- Krokida, M., Kiranoudis, C., Maroulis, Z., Marinos-Kouris, D., 2000, Effect of pretreatment on color of dehydrated products. *Drying Technology*, 18, 1239-1250.
- Lagouri, V., Boskou, D., 1996, Nutrient antioxidants in oregano. *International journal of food sciences and nutrition*, 47(6), 493-497.
- Macheix, J., Fleuriet, A., Billot, J., 1990, The main phenolics of fruit. *Fruit phenolics*, 87.
- Mandala, I., Anagnostaras, E., Oikonomou, C., 2005, Influence of osmotic dehydration conditions on apple air-drying kinetics and their quality characteristics. *Journal of Food Engineering*, 69(3), 307-316.
- Moura, C.P.d., Masson, M., Yamamoto, C.I., 2005, Effect of osmotic dehydration in the apple (*Pyrus malus*) varieties gala, gold and fuji. *Revista de Engenharia Térmica*, 4(1).
- Ndiaye, C., Xu, S.Y., Wang, Z., 2009, Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. *Food Chemistry*, 113(1), 92-95.
- Noshad, M., Mohebbi, M., Shahidi, F., Mortazavi, S.A., 2012b, Multi-objective optimization of osmotic-ultrasonic pretreatments and hot-air drying of quince using response surface methodology. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2098-2110.
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2008a, Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. *Postharvest biology and Technology*, 50(1), 87-94.
- Petriccione, M., Mastrobuoni, F., Pasquariello, M.S., Zampella, L., Nobis, E., Capriolo, G., Scortichini, M., 2015, Effect of chitosan coating on the postharvest quality and antioxidant enzyme system response of strawberry fruit during cold storage. *Foods*, 4(4), 501-523.
- Sapers, G., Miller, R., 1993, Control of Enzymatic Browning in Pre-peeled Potatoes by Surface Digestion. *Journal of food science*, 58(5), 1076-1078.
- Shin, Y., Liu, R.H., Nock, J.F., Holliday, D., Watkins, C.B., 2007, Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 45(3), 349-357.
- Win, N.K.K., Jitareerat, P., Kanlayanarat, S., Sangchote, S., 2007, Effects of cinnamon extract, chitosan coating, hot watertreatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. *Postharvest biology and technology*, 45(3), 333-340.
- Xiao, H.W., Bai, J.W., Sun, D.W., Gao, Z.J., 2014, The application of superheated steam impingement blanching (SSIB) in agricultural products processing—A review. *Journal of Food Engineering*, 132, 39-47.
- Xing, Y., Li, X., Xu, Q., Yun, J., Lu, Y., Tang, Y., 2011, Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*, 124(4), 1443-1450.
- Yadav, A.K., Singh, S.V., 2014, Osmotic dehydration of fruits and vegetables: a review. *Journal of food science and technology*, 51(9), 1654-1673.
- Yam, K.L., Papadakis, S.E., 2004, A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of food engineering*, 61, 137-142.
- Yaman, Ö., Bayındırlı L., 2002, Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. *LWT-Food science and Technology*, 35(2), 146-150.
- Yossef, M., 2014, Comparison of different edible coatings materials for improvement of quality and shelf life of perishable fruits. *Middle East J Applied Sci*, 4, 416-424.
- Yurdugül, S., 2005, Preservation of quinces by the combination of an edible coating material, Semperfresh, ascorbic acid and cold storage. *European Food Research and Technology*, 220(5-6), 579-586.
- Zhang, D., Quantick, P.C., 1997, Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 12(2), 195-202.
- Zhu, X., Wang, Q., Cao, J., Jiang, W., 2008, Effects of chitosan coating on postharvest quality of mango (*Mangifera indica* L. cv. Tainong) fruits. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32(5), 770-784.
- Zivanovic, S., Chi, S., Draughon, A.F., 2005, Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of food science*, 70(1).

The effect of chitosan coating containing lemongrass extract on the quality of dehydrated sliced quince during storage

A. Asarzaghan¹, M. Fazel^{2*}

Received: 2018.09.04

Accepted: 2019.02.16

Introduction: The fruit, with the scientific name of *Cydonia oblonga* comes from apple family, has a dry and fluffy flesh that, due to high vitamin C, Potassium and fiber has commercial and nutritional value. However, this fruit is as corruptible as other fruits and destructive microbial, chemical and mechanical factors that reduce its effective longevity. Enzymatic browning is a major problem for reducing the shelf life of freshly chopped fruits and vegetables. This reaction often occurs due to the activity of polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzymes. Blanching is used to deactivate the relevant enzymes. Blanching is done before such processes as drying, canning, and freezing and somewhat determines the quality of the product. Sulfites are multi-functional compounds that inhibit enzymatic and non-enzymatic browning. Dehydration is one of the oldest techniques for keeping food products. Osmotic dehydration process has been emphasized in recent years due to the negative effects of conventional drying procedures, this process is done to partially remove the water from the plant tissue by immersion in a salt or salt solution. Chitosan is non-toxic, biodegradable substance that can be used as an edible coating to maintain the quality and increase the life after the fruits and vegetables harvest. This protective performance improves by adding antimicrobial, antioxidant. The lemongrass extract was added to the chitosan coating as antimicrobial. The purpose of this study is to investigate the effect of chitosan coating containing lemongrass extract on the shelf life of dehydrated quince fruit slices.

Materials and methods: Metabisulfite was used in order to prevent the browning reactions of slices prepared from blanching, water vapor and chemical solution of sodium. Then, quince slices are dehydrated with osmotic solutions of sorbitol, sucrose by immersion with chitosan containing (0, 0/5, 1 and 2 % lemongrass extract) coated and kept in sterile plates at refrigeration temperature ($4\pm 1^\circ\text{C}$) for 4 weeks. The experiment was carried out in factorial method based on a completely randomized design with three iterations. Variables include the type of osmotic solution (sucrose, sorbitol) and coating treatments (chitosan coating containing 0, 0/5, 1 and 2% lemongrass extract). The studied characteristics included weight loss (%), acidity, pH, ascorbic acid concentration, total phenol, inhibitory activity of free radical (RSA), color properties (components L^* , a^* , b^* , BI) of tissue that was investigated in the first, second, third and fourth week.

Results & discussion: Fruits coated with chitosan containing 2% lemongrass extract had less weight loss changes than other treatments. This can be due to the role of the extract in preventing decay, its antimicrobial properties and the formation of the semipermeable membrane by coating, which prevents weight loss. Edible coatings containing extract, by changing the internal atmosphere and reducing the respiration rate of the fruit, help to maintain better organic acids. Lemongrasses extract causes the delay in the consumption of organic acids in metabolic reactions, including respiration, due to its antioxidant properties. It seems increasing the pH of the fruit is the result of biochemical changes in the fruit during storage time, such as the decomposition of organic acids into sugars and participating the respiratory cycle in which the coating of chitosan containing extract can reduce the breakdown of organic acids by reducing respiration rate. The decrease in the drop of Vitamin C and phenolic compounds of the coated sample is due to oxygen permeation reduction and the creation of adapted atmosphere by coating. The high level of antioxidant activity of lemongrass extract is because of high phenolic compounds of which the highest amount was observed in treatment coated with chitosan containing 2% lemongrass extract. By increasing the concentration of the extract, its phenolic compounds increases which preserve more vitamin C and phenolic compounds and consequently antioxidant properties. Free radical inhibition activity was preserved due to better preservation of phenolic compounds, ascorbic acid and increasing the antioxidant capacity of fruit by chitosan coating containing lemongrass extract. The product brightness decreases during storage. Before the hot-water blanching coating process, sodium metabisulfite and osmotic dehydration have inactivated browning enzymes. Therefore, in quince coated with chitosan, the amount of color changes was not tangible due to the less

1 and 2. MSc student and Assistant professor, Department of Food science and technology Islamic, Azad University Isfahan (Khorasgan) Branch Faculty of Agriculture
(* - Corresponding Author Email: mfazeln@yahoo.com)

respiration and as a result, less enzymatic activity of fruit. Coating containing lemongrass extract has created due to the color of coating extract with the green-tinted color. The increase in the extract concentration reduces the redness and increases the greenness of fruit, which is because of the extract color and as the effect increases, the concentration increases. By decreasing the brightness, increasing the greenness and yellowness during storage time and the browning increased. In quince coated with chitosan, the amount of softening wasn't tangible due to less respiration and as a result, less enzymatic activity of fruit. As the concentration of lemongrass increases the stiffness of the tissue is reduced due to the effect of lemongrass on the fruit tissue cells that cause structural changes. Based on the results, the edible coating containing 2% lemongrass extract is suggested as the best formulation.

Keywords: Lemongrass Extract, Chitosan, Quince fruit slices, Osmotic Dehydration, Edible coatings

تاثیر پیش حرارت‌دهی امواج مادون قرمز و میدان الکتریکی پالسی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب گوجه‌فرنگی

سارا آقاجان‌زاده سورکی¹ - امان محمد ضیائی‌فر^{2*} - مهدی کاشانی‌نژاد³، عباس رضائی اصل⁴

تاریخ دریافت: 1397/05/09

تاریخ پذیرش: 1397/11/08

چکیده

امروزه، میدان الکتریکی پالسی (PEF) به‌عنوان روشی نوین جهت سالم‌سازی و افزایش مدت زمان ماندگاری آب میوه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. آنزیم پکتین متیل استراز (PME) به دلیل دارا بودن مقاومت حرارتی بالا به‌عنوان شاخص کفایت فرآوری آب‌میوه‌ها با اسیدیته بالا، مانند آب گوجه‌فرنگی، شناخته می‌شود. با توجه به ساختار پروتئینی این آنزیم، افزایش دمای اولیه آب میوه قبل از فرآوری PEF، به غیرفعال‌سازی بیش‌تر آن و در نتیجه افزایش کارایی این روش کمک می‌کند. روش نوین حرارت‌دهی سریع مواد غذایی با استفاده از امواج مادون قرمز (IR) در کاهش میزان افت مواد مغذی موثر شناخته می‌شود. از این‌رو، در این پژوهش به تاثیر همزمان دو فرایند حرارتی (IR) و غیرحرارتی (PEF) بر برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب گوجه‌فرنگی پرداخته شد. برای این منظور، ابتدا آب گوجه‌فرنگی با استفاده از امواج IR تا دماهای 40، 45 و 50 درجه سانتی‌گراد حرارت‌دهی شد. سپس، نمونه تحت فرایند PEF مداوم (31/82، 27/27، 22/73) و 36/36 کیلوولت بر سانتی‌متر به مدت 3520 میکروثانیه قرار گرفت. میزان تغییرات اسید اسکوربیک، آنزیم پکتین متیل‌استراز (PME)، کدورت و رنگ آب گوجه فرآوری شده به ترتیب با استفاده از روش‌های یدومتری، کیم‌بال، اسپکتوفوتومتری و پردازش تصویر تعیین گردید. نتایج نشان داد که پیش‌حرارت‌دهی آب‌میوه در کنار وقوع پدیده حرارت‌دهی اهمیت طی فرایند PEF، به دلیل افزایش بسیار سریع دمای آب گوجه‌فرنگی موجب کاهش بیش‌تر میزان فعالیت آنزیم و افزایش کدورت محصول شد. همچنین، مشاهده شد که با ترکیب PEF و حرارت‌دهی ملایم و سریع محصول می‌توان موجب کاهش میزان افت محتوای اسید اسکوربیک و جلوگیری از بروز تغییرات نامطلوب رنگ نمونه شد.

واژه‌های کلیدی: امواج مادون قرمز، میدان الکتریکی پالسی، آب گوجه‌فرنگی، اسید اسکوربیک، آنزیم پکتین متیل‌استراز، خصوصیات رنگی

طولانی مدت مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته است (Ling *et al.*) (2015; Fachin *et al.* 2002).

امواج IR که بخشی از طیف امواج الکترومغناطیس را شامل می‌شوند، دارای طول موجی بین 0/78 تا 1000 میکرومتر می‌باشند (Rastogi, 2012). این امواج پس از برخورد به سطوح منعکس، جذب و یا عبور داده می‌شوند. انرژی جذب شده توسط ماده غذایی مایع، جامد و یا مایع حاوی ذرات جامد به ترتیب به وسیله مکانیسم انتقال حرارت جابجایی، هدایتی و یا ترکیبی از آن دو در داخل ماده غذایی منتقل می‌گردد. جذب IR توسط مواد غذایی به ضخامت، محتوای رطوبتی و ماهیت فیزیکوشیمیایی محصول بستگی دارد. به‌طور کلی، IR تغییراتی در حالت ارتعاشی اتم‌ها و مولکول‌ها ایجاد می‌کند. در واقع، انرژی این امواج توسط پیوند میان هیدروژن - اکسیژن موجود در مولکول آب جذب

مقدمه

تولید محصولات غذایی با کیفیت، مدت زمان ماندگاری و ارزش تغذیه‌ای بالا از اصلی‌ترین دغدغه‌های تولیدکنندگان می‌باشد. فرآوری حرارتی یکی از مرسوم‌ترین روش‌های مورد استفاده در تولید محصولات مختلف غذایی است. با توجه به حساسیت حرارتی بسیاری از ترکیبات مغذی از جمله ترکیبات ضداکسایشی مانند اسید اسکوربیک، استفاده از حرارت‌دهی به‌منظور فرآوری مواد غذایی می‌تواند اثرات منفی بر ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای محصول داشته باشد (Polydera *et al.* 2004). از این رو جهت، امروزه استفاده از روش‌های نوین حرارت‌دهی سریع محصول مانند استفاده از امواج مادون قرمز (IR) و نیز کاربرد روش‌های غیرحرارتی نظیر اعمال میدان الکتریکی پالسی (PEF) به منظور کاهش و یا جلوگیری از افت مواد مغذی ناشی از حرارت‌دهی

* - نویسنده مسئول: (Email: ziaifar@gau.ac.ir)

DOI: 10.22067/iffstrj.v15i2.74437

1، 2 و 3- دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

4- استادیار، گروه مهندسی آب و خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

ویسکوزیته و پایداری آب میوه‌ها می‌باشد (Kimball, 1999). مقاومت حرارتی این آنزیم بیش‌تر از مقاومت حرارتی میکروارگانسیم‌های عامل فساد در آب میوه‌ها با اسیدیته بالا است (Kimball 1999; Polydera *et al.* 2004). بنابراین، غیرفعال شدن این آنزیم به معنی از بین رفتن میکروارگانسیم‌های هدف موجود در این دسته از محصولات می‌باشد. به طور کلی، تاثیر فرایند PEF بر غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها در آب میوه‌های مختلف به شرایط فرایند، خصوصیات آنزیم، نوع و ویژگی‌های ماده غذایی بستگی زیادی دارد (Aghajanzadeh and Ziaifar 2007; Elez-Martinez *et al.* 2017). با توجه به مقاومت بالاتر PME نسبت به میکروارگانسیم‌های عامل فساد در مواد غذایی با اسیدیته بالا، نیاز به فرایند PEF با شدت بالاتر و یا ترکیب آن با یک فرایند حرارتی ملایم به منظور افزایش میزان غیرفعال‌سازی این آنزیم می‌باشد (Aghajanzadeh and Ziaifar 2017).

با توجه به زمان بسیار کوتاه فرآوری محصولات به روش PEF، از تاثیر افزایش دمای ناشی از حرارت‌دهی اهمیت بر غیرفعال‌سازی میکروارگانسیم‌ها و تخریب ترکیبات شیمیایی در تحقیقات انجام شده پیشین چشم‌پوشی شد. اما با توجه به ساختار پروتئینی آنزیم PME، افزایش دما می‌تواند موجب غیرفعال‌سازی بیش‌تر آن و در نتیجه افزایش کارایی تولید آب میوه‌هایی مانند آب گوجه‌فرنگی طی فرآوری PEF گردد. در این مطالعه، جهت افزایش کارایی این فرایند غیرحرارتی بر غیرفعال‌سازی آنزیم PME، از حرارت‌دهی سریع آب گوجه‌فرنگی با استفاده از IR استفاده گردید. همچنین طی فرآوری، تغییرات برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی محصول نیز مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی آب گوجه‌فرنگی

گوجه‌فرنگی وارپته (Red cloud) بازار محلی شهرستان گرگان خریداری شد. پس از شست‌وشو، پوره گوجه‌فرنگی تهیه شده با استفاده از صافی (مش 170) صاف گردید. آب گوجه‌فرنگی تهیه شده بلافاصله جهت انجام آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی فرآوری شد.

طراحی و ساخت دستگاه مداوم PEF مجهز به امواج IR

شکل 1 سیستم مداوم پیش‌حرارت‌دهی ماده غذایی مایع با استفاده از امواج IR و میدان الکتریکی پالسی را نشان می‌دهد. پمپ پیستونی مجهز به چهار سرنگ (حجم 60 میلی‌لیتر) و با قابلیت تنظیم دبی جهت انتقال آب میوه به محفظه اصلی فرایند طراحی و ساخته شد. جهت ساخت پمپ از یک موتور با توان 12 وات (با توان نامی⁶ 60 وات)

شده و سپس آب با بسامد مشابه با پرتو، شروع به ارتعاش می‌کند که نتیجه آن تخریب آب است (Decareau 1985; Fu and Lien 1998). این امر بدون تاثیر بر سایر اجزای مواد غذایی، موجب افزایش کارایی استفاده از IR با هدف حرارت‌دهی انتخابی آب می‌گردد. همچنین استفاده از این امواج نسبت به روش‌های مرسوم حرارتی دارای مزایایی از جمله نفوذ مستقیم حرارت، عدم تماس مستقیم منبع حرارتی و ماده غذایی، کوتاه‌تر بودن زمان فرایند، عدم آلودگی زیست محیطی و حفظ بیش‌تر ترکیبات مغذی و خواص فیزیکی محصول می‌باشد (Rastogi 2012).

استفاده از حرارت‌دهی IR به صورت غیرمداوم جهت پاستوریزاسیون آب میوه‌ها (Aghajanzadeh *et al.* 2016; Vikram *et al.* 2005) به صورت محدودی مورد مطالعه قرار گرفته است. در بررسی انجام شده توسط آقاجانزاده و همکاران (2016)، مشاهده شد که در مقایسه با فرآوری آب لیمو ترش در حمام آب گرم¹، استفاده از این امواج موجب کاهش زمان مرحله افزایش دمای محصول² (CUT) گردید. Vikram و همکاران (2005) نیز طی مقایسه تاثیر این دو روش حرارت‌دهی در فرآوری آب پرتقال به نتایجی مشابه دست یافتند.

امروزه از PEF به تنهایی و یا در کنار سایر روش‌های فرآوری به عنوان روشی موثر جهت پاستوریزاسیون محصولات لبنی و آب میوه‌ها استفاده می‌شود. این روش تنها قادر به از بین بردن فرم روبشی باکتری‌ها می‌باشد و در غیرفعال‌سازی اسپورها ناکارآمد است؛ بنابراین، قابلیت جایگزینی و یا همراه شدن با روش‌های حرارتی جهت پاستوریزاسیون مواد غذایی با اسیدیته بالا را داراست (Mastwijk and Bartels 2005). در سیستم مداوم و یا غیرمداوم PEF، ماده غذایی مایع به ترتیب بین دو الکترود قرار گرفته یا به کمک پمپ از میان آن دو عبور داده می‌شود. در این شرایط محصول، برای مدت زمان کوتاهی در معرض یک میدان الکتریکی پالسی کنترل شده با ولتاژ بالا قرار داده می‌شود (Buckow *et al.* 2011). در واقع، انتقال میدان الکتریکی پالسی از طریق دو الکترود در تماس مستقیم با محصول غذایی انجام می‌گیرد که نتیجه آن وقوع پدیده الکتروپوراسیون³ و افزایش سریع دمای ماده غذایی ناشی از حرارت‌دهی اهمیت⁴ است. در PEF، بر اثر وقوع پدیده الکتروپوراسیون طی زمان بسیار کوتاهی، در دامنه چند میکروثانیه تا چند میلی‌ثانیه، تخریب سلول‌ها و نیز تغییر در ساختار آنزیم‌ها مانند پکتین متیل استراز⁵ (PME) رخ می‌دهد (Kaur and Aggarwal 2015; Raso *et al.* 2016).

PME آنزیمی است که به طور طبیعی در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات مانند گوجه‌فرنگی یافت می‌شود. طی فعالیت این آنزیم، ساختار پکتین دستخوش تغییر می‌گردد که نتیجه آن تغییر حالت ابری،

4 Ohmic Heating
5 Pectin Methyltransferase
6 Nominal Power

1 Water Bath
2 Come Up Time
3 Electroporation

میلی‌متر روبه‌روی هم قرار داده شدند. شدت میدان الکتریکی با استفاده از معادله 1 تعیین شد (Giner et al. 2000):

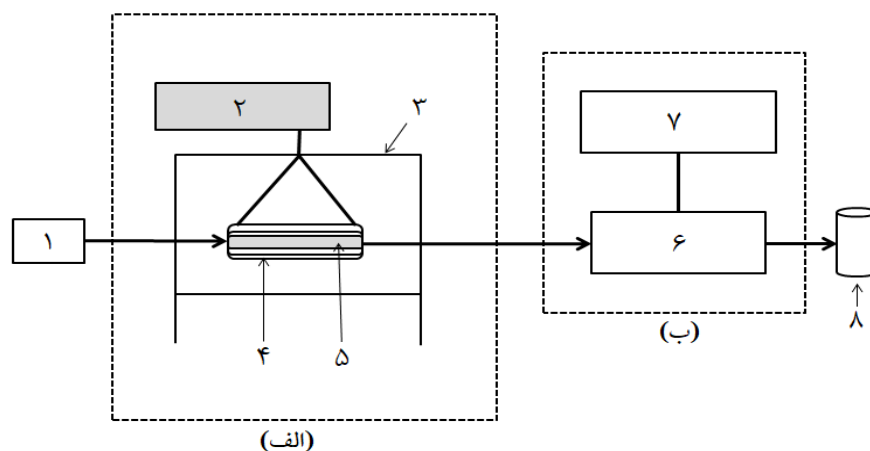
$$E = \frac{V}{d} \quad (1)$$

در این معادله E، V و d به ترتیب نشان‌دهنده شدت میدان الکتریکی (kV/cm)، پتانسیل الکتریکی (kV) و فاصله بین دو الکترود (cm) است. از این جهت با تنظیم ولتاژ خروجی دستگاه، میدان الکتریکی پالسی با شدت‌های 22/73، 27/27، 31/82 و 36/36 کیلوولت بر سانتی‌متر به محصول اعمال شد.

به‌منظور مطالعه تأثیر دما بر خواص فیزیکی‌شیمیایی محصول طی فرآوری با استفاده از PEF، حرارت‌دهی مقدماتی آب گوجه‌فرنگی با عبور نمونه از محفظه لامپ مادون قرمز انجام گرفت. با استفاده از دستگاه کنترل‌کننده دما، دمای آب گوجه‌فرنگی از دمای اولیه 30 به 40، 45 و 50 درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. سپس، نمونه‌های پیش‌حرارت‌دهی شده در معرض PEF با شدت‌های مختلف قرار گرفتند. به‌منظور کاهش میزان ورود هوا، آب گوجه‌فرنگی از قسمت پایین محفظه به فضای بین دو الکترود وارد تزریق شد. اندازه‌گیری دمای نمونه با قرار دادن ترموکوپل نوع K با ضخامت یک میلی‌متر در نقطه خروجی نمونه از میان الکترودها انجام گرفت. نمونه‌ها بلافاصله پس از فرایند حرارتی، در حمام آب یخ تا رسیدن به دمای محیط خنک شدند.

به‌منظور تأمین نیروی محرکه سیستم استفاده شد. انرژی الکتریکی مورد نیاز سیستم نیز توسط یک منبع تغذیه صنعتی با ولتاژ 12 ولت و شدت جریان 10 آمپر تأمین شد. جهت افزایش دمای آب میوه از لامپ مادون قرمز با قطر خارجی 10 میلی‌متر استفاده شد. شدت انتقال حرارت از لامپ به نمونه معادل 796/18 کیلووات در واحد سطح تخمین زده شد. این لامپ در محفظه شیشه‌ای دو لوله‌ای قرار داده شد. جهت کنترل دمای نمونه و دستیابی به دماهای مورد نظر از دستگاه کنترل‌کننده دما مجهز به ترموکوپل نوع k استفاده شد.

مولد پالسی به گونه‌ای طراحی شد که قابلیت تولید پالس‌هایی با ولتاژ بالا را با استفاده از برق شهری (ولتاژ معمولی 220 ولت) داشت. در این پژوهش، موج مربعی شکل - دوقطبی به عرض 1 میلی‌ثانیه و فرکانس¹ ثابت 32 هرتز مورد استفاده قرار گرفت. تعداد پالس (n) اعمال شده به نمونه در شدت جریان 0/5 میلی‌لیتر در هر ثانیه معادل 3/52 محاسبه شد. زمان فرایند معادل حاصل ضرب تعداد پالس در عرض پالس می‌باشد (Elez-Martinez et al. 2007). بنابراین زمان فرآوری آب گوجه‌فرنگی با استفاده از PEF، در این شدت جریان 3520 میکروثانیه بود. استفاده از الکترود از جنس طلا، پلاتین و کربن نیز جهت ساخت محفظه فرآوری PEF گزارش شده است؛ اما الکترود از جنس استیل ضد زنگ به‌عنوان متداول‌ترین و مناسب‌ترین نوع از نظر مقاومت در برابر خوردگی و قیمت در نظر گرفته می‌شود (Bushnell et al. 1996). در محفظه فرآوری این دستگاه از دو الکترود از جنس استیل ضد زنگ (316) به طول و ضخامت به ترتیب 10 و 0/5 میلی‌متر استفاده شد. دو الکترود به صورت موازی با فاصله مشخص 0/55



شکل 1- نمای شماتیک (الف) دستگاه پیش‌حرارت‌دهی با استفاده از امواج مادون قرمز و (ب) PEF جهت فرآوری آب میوه: 1- پمپ، 2- کنترل‌کننده دما، 3- محفظه فلزی، 4- محفظه شیشه‌ای، 5- لامپ مادون قرمز، 6- محفظه فرآوری PEF، 7- دیتالاگر و 8- نمونه فرآوری شده

آزمون‌های شیمیایی و فیزیکی

فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز

در این روش، میزان اسید تولید شده به‌عنوان معیاری جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم در نظر گرفته شد (Kimball, 1999). برای این منظور، 20 میلی‌لیتر محلول نمکی پکتین (محلول یک لیتری حاوی 10 گرم پکتین و 15/3 گرم نمک سدیم کلرید) به 5 میلی‌لیتر آب میوه موجود در یک بشر 100 میلی‌لیتری اضافه شد. با توجه به تاثیر دما بر تعیین فعالیت این آنزیم، دمای نمونه با استفاده از همزن مغناطیسی به‌صورت یکنواخت روی 30 درجه سانتی‌گراد تنظیم و حفظ گردید. جهت افزایش دقت انجام آزمایش نیاز است با استفاده از یک محلول قلیایی (سدیم هیدروکسید) pH نمونه به محدوده خنثی رسانده شود. پس از رساندن pH محلول با استفاده از سود 2 نرمال به حدود 7، با کمک سود رقیق‌تر (0/05 نرمال) pH محلول در 7/7 تنظیم شد. پس از آن 0/1 میلی‌لیتر سود 0/05 نرمال به‌صورت یکباره به نمونه اضافه شد. زمان مورد نیاز جهت تولید اسید ناشی از فعالیت آنزیم و خنثی کردن قلیائیت 0/1 میلی‌لیتر سود افزوده شده ثبت شد. با جای‌گذاری زمان برگشت pH به میزان 7/7 در معادله 2 میزان فعالیت این آنزیم بر حسب (unit/ml) محاسبه شد.

$$(2) \quad \text{میزان فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز}^1 = \frac{(0/1 \text{ میلی‌لیتر سود}) \times (\text{سود } 0/05 \text{ نرمال})}{(\text{زمان بازگشت بر حسب دقیقه}) \times (5 \text{ میلی‌لیتر نمونه})}$$

میزان اسید اسکوربیک

جهت اندازه‌گیری میزان اسید اسکوربیک از روش تیتراسیون ید (یدومتری) استفاده شد (Kashyap and Gautam 2012). در این روش، اندازه‌گیری این ویتامین ($C_6H_8O_6$) بر پایه واکنش‌های اکسایش-کاهش انجام گرفت چرا که یک اسید ضعیف و یک عامل کاهنده خوب است. برای این منظور، ابتدا 20 میلی‌لیتر نمونه به یک بالن حجمی 250 میلی‌لیتری انتقال داده و با 150 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. محلول حاصل پس از افزودن یک میلی‌لیتر محلول شاخص نشاسته یک درصد، با محلول ید تا ظهور رنگ آبی سیاه تیترا شد. میزان میلی‌گرم اسید اسکوربیک در 100 میلی‌لیتر نمونه بر اساس معادله 3 محاسبه شد (Bessey and King 1933; Behera et al. 2010).

(3) حجم معرف مصرفی $\times 0/88 =$ میزان اسید اسکوربیک (میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر نمونه)

جهت آماده‌سازی محلول ید، ابتدا 5 گرم پتاسیم یدید و 0/268 گرم پتاسیم یدات در بالن 500 میلی‌لیتری با 200 میلی‌لیتر آب مقطر

به‌خوبی حل شد و سپس به محلول حاصل 30 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 3 مولار اضافه گردید. در انتها حجم محلول با آب مقطر به 500 میلی‌لیتر رسانده شد.

میزان کدورت

به‌منظور اندازه‌گیری میزان کدورت، 5 میلی‌لیتر آب گوجه‌فرنگی با دور 3000 rpm در دمای محیط (25 درجه سانتی‌گراد) ساترifiوژ شد. سپس جذب نمونه در اسپکتوفوتومتر در طول موج 660 نانومتر خوانده شد (Versteeg et al. 1980).

تغییرات رنگ

جهت مطالعه تاثیر فرآوری حرارتی بر رنگ محصول، 15 میلی‌لیتر آب میوه به یک پلیت (با ارتفاع یک و قطر نه سانتی‌متر) انتقال یافت و تصویر آن به کمک اسکنر، پوشانیده شده با یک پارچه کاملاً سیاه و ضخیم به‌منظور جلوگیری از ورود هرگونه نور از محیط خارج، اسکن شد. تصاویر با وضوح 1200dpi و با فرمت JPEG ذخیره شدند. پس از انتقال تصاویر به کامپیوتر مقادیر مقادیر L^* ، a^* و b^* نمونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار ImageJ (نسخه 1/47) استخراج گردید. شاخص قهوه‌ای شدن BI^2 و اختلاف کل رنگ TCD^3 به ترتیب بر اساس مولفه‌های رنگی به‌دست آمده و با استفاده از معادلات 4 تا 6 محاسبه شد (Aghajanzadeh et al. 2016).

$$(4) \quad x = \frac{a^* + 1.75 \times L^*}{5.64 L^* + a^* - 3.012 b^*}$$

$$(5) \quad BI = \frac{[100(x-0.31)]}{0.17}$$

$$(6) \quad TCD = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2}$$

مولفه L^* (معادل روشنایی تصویر که بین صفر معادل مشکی و 100 معادل انعکاس کامل نور)، مقادیر مولفه a^* (مقادیر مثبت معادل رنگ قرمز و مقادیر منفی معادل رنگ سبز) و مولفه b^* (مقادیر مثبت معادل رنگ زرد و مقادیر منفی معادل رنگ آبی) است. اندیس‌ها با زیروند صفر مربوط به مقادیر خوانده شده از نمونه شاهد (آب میوه تازه) است.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این بررسی اثر تیمار حرارتی آب گوجه‌فرنگی با استفاده از امواج مادون قرمز در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی بررسی شد. جهت

روش‌های آزمون (1386) مطابقت داشت. با توجه به pH، آب گوجه‌فرنگی محصولی با اسیدیته بالا (pH<4/6) به شمار می‌رود؛ از این‌رو، اعمال فرایند حرارتی ملایم‌تر (دمای زیر 100 درجه سانتی‌گراد) جهت سالم‌سازی این محصول توصیه می‌گردد (McGlynn, 2003). بنابراین در این پژوهش، شرایط فرآوری این محصول به گونه‌ای تنظیم شد که دمای نهایی محصول به بیش از 100 درجه سانتی‌گراد افزایش نیابد.

آنالیز نتایج به دست‌آمده از نرم‌افزار SAS نسخه 9.1 استفاده شد. میانگین‌ها به روش دانکن در سطح اطمینان 95 درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تغییرات دمای محصول

خصوصیات آب گوجه‌فرنگی تهیه شده (جدول 1) با استاندارد ملی ایران به شماره 1112 تحت عنوان آب گوجه‌فرنگی ویژگی‌ها و

جدول 1- درصد ترکیبات شیمیایی و خواص فیزیکی آب گوجه‌فرنگی تازه

میزان	ترکیبات
4/23 ± 0/04	pH
1/02 ± 0/ 01	دانسیته (g/cm ³)
96/04 ± 1/77%	رطوبت
4/83 ± 0/04	ماده جامد محلول
0/51 ± 0/00%	اسیدیته (بر حسب اسید)
0/19 ± 0/04%	خاکستر (بر حسب وزن خشک)

اعداد موجود در جدول میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشند

جدول 2- تأثیر شرایط مختلف فرآوری بر دمای خروجی آب گوجه‌فرنگی و محتوای اسید اسکوربیک و آنزیم PME موجود در آن

دما ورودی (°C)	شدت میدان الکتریکی (kV/cm)	دمای خروجی محصول (°C)	محتوای اسید اسکوربیک (%)	فعالیت آنزیم PME (%)
30	22/73	41/0 ± 1/4 ^k	97/2 ± 3/9 ^a	70/7 ± 5/5 ^a
	27/27	49/5 ± 0/7 ⁱ	86/5 ± 4/4 ^{ab}	69/7 ± 3/1 ^a
	31/81	64/0 ± 0/0 ^g	85/2 ± 5/2 ^{ab}	68/0 ± 0/9 ^a
	36/36	74/0 ± 0/0 ^e	83/8 ± 3/5 ^{abc}	66/9 ± 5/7 ^a
40	22/73	52/0 ± 0/7 ^j	63/7 ± 3/3 ^{bcd}	27/4 ± 0/6 ^b
	27/27	60/0 ± 1/5 ^{hi}	59/8 ± 3/8 ^{cd}	21/1 ± 1/6 ^b
	31/81	74/0 ± 1/4 ^e	57/9 ± 2/4 ^d	25/0 ± 4/2 ^b
	36/36	82/0 ± 1/4 ^c	51/7 ± 1/5 ^d	20/4 ± 0/9 ^b
45	22/73	57/0 ± 0/0 ⁱ	64/9 ± 3/1 ^{bcd}	24/8 ± 2/6 ^b
	27/27	62/0 ± 0/0 ^{gh}	60/3 ± 4/2 ^{cd}	25/2 ± 3/9 ^b
	31/81	78/5 ± 0/7 ^d	58/8 ± 3/1 ^d	23/9 ± 3/9 ^b
	36/36	88/0 ± 1/4 ^b	56/8 ± 3/7 ^d	22/4 ± 4/3 ^b
50	22/73	64/0 ± 1/4 ^g	63/0 ± 1/1 ^{bcd}	27/5 ± 5/6 ^b
	27/27	69/0 ± 1/5 ^f	59/0 ± 3/7 ^d	23/3 ± 2/8 ^b
	31/81	84/0 ± 1/4 ^e	57/5 ± 3/4 ^d	20/7 ± 0/2 ^b
	36/36	93/0 ± 1/1 ^a	5/56 ± 1/3 ^d	19/0 ± 0/5 ^b

همان‌گونه که در جدول 2 مشاهده می‌شود، دمای آب گوجه‌فرنگی پیش‌حرارت‌دهی شده پس از عبور از میان الکترودها به میزان قابل توجهی افزایش یافت ($P < 0/05$). بدون در نظر گرفتن دمای ورودی نمونه، نرخ افزایش دمای نمونه خروجی از محفظه PEF در هر شدت میدان الکتریکی، مشابه و ثابت بود. میزان افزایش دمای محصول پس از اعمال میدان الکتریکی با شدت 22/73، 27/27، 31/81 و 36/36 کیلوولت بر سانتی‌متر به ترتیب معادل 12/38 ± 1/25، 18/88 ± 1/31،

33/88 ± 0/25 و 43/13 ± 0/85 درجه سانتی‌گراد بود. دمای مواد غذایی، به دلیل دارا بودن غلظت بالای یون‌ها، پس از قرارگیری در معرض میدان الکتریکی افزایش می‌یابد (Demirdöven and Baysal 2014). در واقع، افزایش ناگهانی دمای محصول غذایی طی فرآوری با استفاده از PEF که به حرارت‌دهی اهمیت نسبت داده می‌شود، به‌عنوان عاملی مهم در نابودسازی میکروارگانیسم‌ها و غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها معرفی می‌گردد. میزان این افزایش دما به عوامل

مختلفی مانند هدایت الکتریکی محصول، اندازه ذرات، شدت میدان الکتریکی و خصوصیات الکترودها بستگی دارد (Kaur and Singh, 2015).

محتوای اسید اسکوربیک موجود در آب گوجه‌فرنگی فرآوری

شده

میزان اسیداسکوربیک در آب گوجه‌فرنگی تازه معادل 22/08 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر نمونه تعیین شد. در مقایسه با آبمیوه تازه، محتوای این ویتامین در نمونه‌های فرآوری شده با استفاده از امواج IR و PEF کاهش یافت ($P < 0/05$). مطابق جدول 2، مشاهده شد که محتوای اسید اسکوربیک نمونه‌ها با افزایش دمای ورودی آبمیوه به محفظه PEF به میزان قابل توجهی کاهش یافت ($P < 0/05$). این موضوع حساسیت حرارتی بالای این ویتامین و اهمیت کنترل فرآوری حرارتی حین تولید محصولات غذایی را نشان می‌دهد. از طرفی، مطالعات نشان داد که افزایش سریع دمای آب میوه طی حرارت‌دهی با استفاده از IR موجب حفظ بیش‌تر محتوای اسید اسکوربیک در مقایسه با محصول فرآوری شده در حمام آب گرم گردید (Aghajanzadeh, 2005; Vikram et al. 2016; et al.).

همچنین مشاهده شد که اعمال شدت‌های مختلف PEF در یک زمان مشخص تغییری بر محتوای این ویتامین در آب گوجه‌فرنگی نداشت ($P > 0/05$) که این نتیجه، کارایی فرآوری PEF در حفظ ارزش غذایی محصول را نشان می‌دهد. تیمار حرارتی آب گوجه‌فرنگی در مبدل حرارتی لوله‌ای¹ (90 درجه سانتی‌گراد به مدت 60 ثانیه) موجب کاهش 20/8 درصدی میزان اسید اسکوربیک شد. این در حالی است که میزان کاهش این ویتامین در نمونه فرآوری شده به روش PEF (35kV/cm به مدت 1500 μ s) میزان 13/5 درصد گزارش شد (Odriozola-Serrano et al. 2008). همچنین طی فرآوری این محصول با استفاده از PEF (40kV/cm به مدت 57 μ s) و نیز فرآوری آن در مبدل حرارتی (92 درجه سانتی‌گراد به مدت 90 ثانیه) مشاهده شد که محتوای اسید اسکوربیک محصول حرارت‌دهی شده، نسبت به آب میوه تازه، به میزان 10 درصد کاهش یافت. این در حالی بود که تغییر چشمگیری در میزان این ویتامین در نمونه تیمار شده با استفاده از PEF مشاهده نشد (Min et al. 2003).

غیرفعال‌سازی آنزیم

میزان فعالیت آنزیم PME موجود در آب گوجه‌فرنگی تازه معادل PEU $0/0001 \pm 0/0053$ بود. بخشی از مرحله CUT دارای اثر کشندگی بر میکروارگانیسم‌ها و همچنین غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها است که به میزان زیادی به شرایط محیط حرارتی، جنس و ابعاد ظرف و

حجم نمونه بستگی دارد (Ball, 1923). برای مثال طی حرارت‌دهی آب پرتقال در حمام آب گرم (در دماهای 60 تا 90 درجه سانتی‌گراد)، میزان اثر مرحله CUT بر غیرفعال‌سازی PME معادل 46 تا 58 درصد گزارش شد. علی‌رغم کوتاه بودن مرحله CUT در فرآوری حرارتی با استفاده از امواج IR، تاثیر آن بر غیرفعال‌سازی این آنزیم نیز مشاهده شد (Tajchakavit & Ramaswamy, 1997)؛ به طوری که میزان فعالیت این آنزیم پس از اتمام مرحله پیش‌حرارت‌دهی و رسیدن دمای نمونه به 40، 45 و 50 درجه سانتی‌گراد به ترتیب $1/55 \pm 12/09$ ، $4/06 \pm 17/43$ و $1/32 \pm 22/54$ درصد کاهش یافت. همان‌گونه که در جدول 2 نشان داده شد، پیش‌حرارت‌دهی محصول و به دنبال آن اعمال میدان الکتریکی با شدت‌های متفاوت موجب کاهش زیادی در فعالیت آنزیم نسبت به آب میوه تازه شد ($P < 0/05$).

به‌طور کلی، تاثیر پیش‌حرارت‌دهی آب گوجه‌فرنگی بر کاهش فعالیت PME به میزان قابل ملاحظه‌ای بیش‌تر از اثر فرآوری با استفاده از PEF بود. این امر به پروتئینی بودن ساختار آنزیم و در نتیجه حساسیت بالاتر آن نسبت به تغییرات دمایی نسبت داده می‌شود. افزایش ناگهانی دما در محصول و یا تشکیل نقاط گرم در محفظه فرآوری PEF که ناشی از حرارت‌دهی همیک است، می‌تواند موجب بروز تغییراتی در ساختار پروتئینی آنزیم گردد (Jaeger et al. 2009; Schilling et al. 2008). در کنار افزایش دمای محصول، بر اثر وقوع پدیده غیرحرارتی الکتروپوراسیون، آنزیم موجود در پالپ به درون عصاره آزاد می‌شود. PME همانند سایر آنزیم‌ها دارای ساختار پروتئینی است بنابراین دارای بار سطحی و حرکات قطبی در محیط مایع مانند آب میوه می‌باشد. حضور یون‌ها باعث افزایش هدایت جریان الکتریکی می‌گردد (Zhang et al. 1995). همچنین به دلیل وجود میدان الکتریکی پالسی با ولتاژ بالا، آرایش فضایی ساختار پروتئینی آنزیم و یونیزه شدن ذرات موجود در عصاره رخ می‌دهد که نتیجه‌ی آن غیرفعال‌سازی آنزیم خواهد بود (Samaranayake and Sastry 2016). بنابراین تاثیرات الکتروشیمیایی و نیز تغییرات دمایی حین این فرایند باعث بروز تغییر در ساختار دوم و چهارم پروتئینی آنزیم و در نتیجه غیرفعال‌سازی آن شد (Terefe et al. 2013)؛ چرا که به دلیل تغییر در ساختار فضایی طبیعی آنزیم‌ها و یا گروه‌های عاملی آن‌ها، سوبسترا نمی‌تواند با جایگاه فعال آنزیم پیوند دهد (Hendrickx et al. 1998).

کاهش 81/4٪ در فعالیت PME موجود در آب هویج - پرتقال پس از فرآوری در میدان الکتریکی پالسی با شدت 25 kV/cm طی زمان 340μ s در دمای 63 درجه سانتی‌گراد گزارش شد (Rodrigo et al. 2003). مطالعات نشان می‌دهد که ترکیب PEF با حرارت‌دهی ملایم (دمای 55 تا 65 درجه سانتی‌گراد) موجب افزایش نرخ تخریب این آنزیم گردید (Espachs-Barroso et al. 2006). رینر و همکاران (2009)

مشاهده کردند که قبل از شروع فرآوری با استفاده از PEF، پیش‌حرارت‌دهی آب میوه در حمام آب گرم موجب کاهش مدت زمان لازم جهت کاهش 90% فعالیت این آنزیم شد (Riener et al. 2009). همچنین گزارش شد که پیش‌حرارت‌دهی آب گوجه‌فرنگی پیش از استفاده از PEF غیرمداوم (20، 80kV/cm پالس) موجب کاهش 55 درصدی در فعالیت این آنزیم گردید (Nguyen and Mittal 2007).

تغییرات خصوصیات ظاهری محصول

پکتین نقش بسزایی در بروز کدورت و حالت ابری مطلوب بسیاری از آبمیوه‌ها مانند آب مرکبات و آب گوجه‌فرنگی دارد. بر اثر تجزیه پکتین ناشی از فعالیت PME، پایداری و کدورت محصول کاهش می‌یابد که نتیجه آن افت کیفیت و بازارپسندی محصول خواهد بود. در این مطالعه مشاهده شد که به طور کلی میزان کدورت نمونه‌های فرآوری شده حدود 35/41 درصد نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت ($P < 0/05$) که علت آن به غیرفعال‌سازی آنزیم PME و وقوع پدیده الکتروپوراسیون نسبت داده می‌شود. این درحالی است که پیش-حرارت‌دهی آب میوه و نیز استفاده از شدت‌های مختلف میدان الکتریکی پالسی تاثیر چشمگیری بر میزان این اندیس نداشته است ($P > 0/05$). در مطالعه انجام شده در این زمینه گزارش شد که طی حرارت‌دهی آب لیموترش با استفاده از IR، میزان اندیس ابری شدن به ازای افزایش دمای محصول به میزان 10 درجه سانتی‌گراد، حدود 1/44 برابر افزایش یافت (Aghajanzadeh et al. 2016). همچنین به دلیل بروز الکتروپوراسیون طی PEF، محتوای پکتین موجود در آب پرتقال و آب هویج به ترتیب به میزان 2 و 14/78 درصد افزایش یافت. نتایج این بررسی نشان داد که با توجه به نقش پکتین به‌عنوان عامل کلیدی در بروز حالت ابری آب میوه‌ها و سبزی‌های مختلف به همراه کاهش میزان فعالیت PME، میزان کدورت این دسته از محصولات طی فرآوری با استفاده از PEF افزایش یافت (Demirdöven and Baysal 2014; Rayman et al. 2011).

میزان اندیس قهوه‌ای شدن آب گوجه‌فرنگی تازه $304/82 \pm 23/76$ محاسبه شد که حرارت‌دهی محصول در محفظه امواج IR موجب افزایش 1/7 برابری این اندیس نسبت به نمونه شاهد شد ($P < 0/05$). همچنین پس از اعمال PEF افزایش جزئی در میزان قهوه‌ای شدن رنگ نمونه‌ها مشاهده شد ($P > 0/05$). از این رو، می‌توان بیان نمود که افزایش دمای محصول به دلیل تاثیر بر روند تخریب اسید اسکوربیک موجب بروز تغییر چشمگیری در میزان این اندیس شد. بنابراین می‌توان بیان نمود که رابطه‌ای معکوس میان محتوای اسید اسکوربیک و اندیس قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی آب میوه طی فرآوری مشاهده شد. نتایج حاصل از بررسی‌های انجام گرفته توسط محققین نیز تاییدی بر وجود چنین رابطه‌ای میان محتوای اسید اسکوربیک و BI است (Roig et al. 2011).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش به تاثیر همزمان فرایندهای حرارتی (استفاده از امواج IR) و غیرحرارتی (PEF) بر ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی آب گوجه‌فرنگی پرداخته شد. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از امواج IR و نیز افزایش شدت میدان الکتریکی اعمال شده موجب افزایش بسیار سریع دمای آب گوجه‌فرنگی می‌شود. از طرفی، با توجه به ساختار پروتئینی PME، پیش‌حرارت‌دهی آب میوه و نیز افزایش دمای نمونه طی فرایند PEF موجب افزایش میزان غیرفعال‌سازی این آنزیم گشت. کاهش فعالیت PME و افزایش محتوای پکتین موجود در آب گوجه‌فرنگی بر اثر وقوع پدیده الکتروپوراسیون طی PEF موجب

مرحله CUT و در نتیجه جلوگیری از افت کیفیت ماده غذایی پیشنهاد می‌شود.

افزایش کدورت نمونه شد. با افزایش دمای محصول به دلیل تخریب بیش‌تر اسید اسکوربیک، میزان اندیس قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی افزایش یافت. تغییرات کلی رنگ نمونه فرآوری شده با PEF مشابه آن در آب میوه تازه بود که نشانگر کارایی بالای این روش در حفظ ظاهر مطلوب آب میوه تازه است. با توجه به نتایج به‌دست آمده، استفاده از روش‌های نوین حرارت‌دهی سریع مانند IR به‌منظور کاهش زمان

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از تلاش‌ها و راهنمایی‌های آقای مهندس پیمان اصغرتابار کاشی جهت طراحی و ساخت این دستگاه قدردانی می‌گردد.

منابع

- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (1386). آب گوجه‌فرنگی - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون، استاندارد شماره 1112.
- Aghajanzadeh, S., Kashaninejad, M., & Ziaifar, A. M., 2016, Effect of infrared heating on degradation kinetics of key lime juice physicochemical properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 38, 139-148.
- Aghajanzadeh, S., & Ziaifar, A. M., 2017, A review of pectin methylesterase inactivation in citrus juice during pasteurization. *Trends in Food Science & Technology*.
- Avila, I. M. L. B., & Silva, C. L. M. 1999, Modelling kinetics of thermal degradation of colour in peach puree. *Food Engineering*, 39, 161-166.
- Ball, C. O. 1923, *Thermal process time for canned food*. Bulletin of the National Research Council No. 37, 7, Part 1 Natl Res Council, Washington, DC.76.
- Behera, K., Sahoo, S., & Prusti, A., 2010, Biochemical quantification of diosgenin and ascorbic acid from the tubers of different dioscorea species found in Orissa. *Libyan Agriculture Research Center Journal International*, 1(2), 123-127.
- Bessey, O. A., & King, C., 1933, The distribution of vitamin C in plant and animal tissues, and its determination. *Journal of Biological Chemistry*, 103, 687-698.
- Buckow, R., Baumann, P., Schroeder, S., & Knoerzer, K., 2011, Effect of dimensions and geometry of co-field and co-linear pulsed electric field treatment chambers on electric field strength and energy utilisation. *Journal of Food Engineering*, 105(3), 545-556.
- Bushnell, A. H., Clark, R. W., Dunn, J. E., & Lloyd, S.W. 1996. *Process for reducing levels of microorganisms in pumpable food products using a high pulsed voltage system*. US Patent, 5,514,391.
- Cserhalmi, Z., Sass-Kiss, A., Tóth-Markus, M., & Lechner, N. 2006, Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 7(1-2), 49-54.
- Decareau, R. V., 1985, *Microwaves in the food processing industry*: Academic Press.
- Demirdöven, A., & Baysal, T., 2014, Optimization of ohmic heating applications for pectin methylesterase inactivation in orange juice. *Journal of food science and technology*, 51(9), 1817-1826.
- Elez-Martinez, P., Suarez-Recio, M., & Martin-Belloso, O., 2007, Modeling the reduction of pectin methyl esterase activity in orange juice by high intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 184-193.
- Espachs-Barroso, A., Van Loey, A., Hendrickx, M., & Martín-Belloso, O., 2006, Inactivation of plant pectin methylesterase by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 7(1), 40-48.
- Fachin, D., Van Loey, A. M., Nguyen, B. L., Verlent, I., & Hendrickx, M. E., 2002, Comparative study of the inactivation kinetics of pectinmethylesterase in tomato juice and purified form. *Biotechnology progress*, 18(4), 739-744.
- Fu, W.-R., & Lien, W.-R., 1998, Optimization of far infrared heat dehydration of shrimp using RSM. *Journal of Food Science*, 63(1), 80-83.
- Giner, J. n., Gimeno, V., Espachs, A., Elez, P., Barbosa-Cánovas, G. V., & Martín, O. 2000. Inhibition of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) pectin methylesterase by pulsed electric fields. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(1), 57-67.
- Hendrickx, M., Ludikhuyze, L., Van den Broeck, I., & Weemaes, C., 1998, Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Science & Technology*, 9(5), 197-203.

- Jaeger, H., Meneses, N., & Knorr, D., 2009, Impact of PEF treatment inhomogeneity such as electric field distribution, flow characteristics and temperature effects on the inactivation of E .coli and milk alkaline phosphatase. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(4), 470-480.
- Kashyap, G., & Gautam, M., 2012, Analysis of vitamin c in commercial and natural substances by iodometric titration found in nimar and malwa region. *Journal of Scientific Research in Pharmacy*, 1(2), 77-78.
- Kaur, G., & Aggarwal, P., 2015, Effect of chemical preservation over thermal processing on storage stability of tomato juice. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 34(1), 49-53.
- Kaur, N., & Singh, A., 2015, Ohmic Heating: Concept and Applications-A Review. *Critical reviews in food science and nutrition*(just-accepted), 00-00.
- Kimball, D. A., 1999, Citrus processing. A complete guide, 2nd edn. *Aspen Publishers, Inc., aithersburg, Maryland*, 257-264.
- Ling, B., Tang, J., Kong, F., Mitcham, E., & Wang, S., 2015, Kinetics of Food Quality Changes During Thermal Processing: a Review. *Food and bioprocess technology*, 8(2), 343-358.
- McGlynn, W. G. 2003, *The importance of food pH in commercial canning operations*. Oklahoma Cooperative Extension Service. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources. Oklahoma State University.
- Mastwijk, H., & Bartels, P., 2005, Pulsed electric Field (PEF) processing in the fruit juice and dairy industry. *The International Review of Food Science and Technology*, 2004, 106-108.
- Min, S., Jin, Z. T., & Zhang, Q. H., 2003, Commercial scale pulsed electric field processing of tomato juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3338-3344.
- Min, S., & Zhang, Q., 2003, Effects of Commercial-scale pulsed electric field processing on flavor and color of tomato juice. *Journal of Food Science*, 68(5), 1600-1606.
- Nguyen, P., & Mittal, G., 2007, Inactivation of naturally occurring microorganisms in tomato juice using pulsed electric field (PEF) with and without antimicrobials. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(4), 360-365.
- Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O., 2008, Changes of health-related compounds throughout cold storage of tomato juice stabilized by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(3), 272-279.
- Polydera, A., Galanou, E., Stoforos, N., & Taoukis, P., 2004, Inactivation kinetics of pectin methylesterase of greek Navel orange juice as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. *Journal of Food Engineering*, 62(3), 291-298.
- Raso, J., Frey, W., Ferrari, G., Pataro, G., Knorr, D., Teissie, J., & Miklavčič, D., 2016, Recommendations guidelines on the key information to be reported in studies of application of PEF technology in food and biotechnological processes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 312-321.
- Rastogi, N. K., 2012, Recent trends and developments in infrared heating in food processing. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(9), 737-760.
- Rayman, A., Baysal, T., & Demirdöven, A., 2011, Optimisation of electroplasmolysis application for increased juice yield in carrot juice production. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(4), 781-786.
- Riener, J., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D. J., & Lyng, J. G., 2009, Combined effect of temperature and pulsed electric fields on pectin methyl esterase inactivation in red grapefruit juice (*Citrus paradisi*). *European Food Research and Technology*, 228(3), 373-379.
- Rodrigo, D., Barbosa-Cánovas, G., Martinez, A., & Rodrigo, M., 2003, Pectin methyl esterase and natural microflora of fresh mixed orange and carrot juice treated with pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*, 66(12), 2336-2342.
- Roig, M. G., Bello, J. F., Rivera, Z. S., & Kennedy, J. F. 1999. Studies on the occurrence of non-enzymatic browning during storage of citrus juice. *Food Research International*, 32, 609-619.
- Samaranayake, C. P., & Sastry, S. K., 2016, Effects of controlled-frequency moderate electric fields on pectin methylesterase and polygalacturonase activities in tomato homogenate. *Food Chemistry*, 199, 265-272.
- Schilling, S., Schmid, S., Jager, H., Ludwig, M., Dietrich, H., Toepfl, S., Knorr, D., Neidhart, S., Schieber, A., & Carle, R., 2008, Comparative study of pulsed electric field and thermal processing of apple juice with particular consideration of juice quality and enzyme deactivation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(12), 4545-4554.

- Tajchakavit, S., & Ramaswamy, H. 1997, Continuous-flow microwave inactivation kinetics of pectin methyl esterase in orange juice. *Journal of food processing and preservation*, 21(5), 365-378.
- Terefe, N. S., Kleintschek, T., Gamage, T., Fanning, K. J., Netzel, G., Versteeg, C., & Netzel, M., 2013, Comparative effects of thermal and high pressure processing on phenolic phytochemicals in different strawberry cultivars. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19, 57-65.
- Versteeg, C., Rombouts, F., Spaansen, C., & Pilnik, W., 1980, Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. *Journal of Food Science*, 45(4), 969-971.
- Vikram, V., Ramesh, M., & Prapulla, S, 2005, Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. *Journal of Food Engineering*, 69(1), 31-40.
- Zhang, Q., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G., 1995, Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *Journal of Food Engineering*, 25(2), 261-281.

The effect of infrared pre-heating and pulsed electric field on physicochemical properties of tomato juice

S. Aghajanzadeh Suraki¹, A. M. Ziaifar^{2*}, M. Kashaninejad³, A. Rezaie Asl⁴

Received: 2018.07.31

Accepted: 2019.01.28

Introduction: Tomato consumption is recommended due to its brilliant color, amazing taste, high antioxidants and vitamins content. Pectin methylesterase (PME) is known as a pasteurization index in tomato juice. This enzyme plays important roles in cloud stability, color, viscosity and organoleptic properties of the juice. PME induces the cloud loss in the juice due to the formation of the insoluble calcium pectate; its inactivation is therefore needed to maintain the juice stability. Degradation of ascorbic acid (AA) in the juice is considered as a major challenge during thermal food processing procedures. Furthermore, during its degradation non enzymatic browning occurs, affecting the taste and color. Novel juice processing methods such as infrared (IR) heating and pulsed electric field (PEF) reduce the adverse effects of the conventional thermal method. Quick IR heating produces a juice having higher nutritional value and better quality. During PEF processing, the juice is subjected to high voltage electric pulses for a few microseconds to inactivate target microorganisms and enzymes. Considering the protein structure of the PME, PEF processing at a higher temperature can be effective in this enzyme inactivation. A quick pre-heating of the juice using IR heating was therefore applied in this study. Furthermore, the ohmic heating, occurring during PEF treatment, was not prevented. The synergistic effect of thermal treatment and a non-thermal one (continuous PEF system) on some physicochemical properties of tomato juice were investigated.

Materials and methods: Tomato juice, with an initial temperature of 30°C, was firstly preheated using a continuous IR heating system. During the IR treatment, a temperature controller was applied to set the outlet temperature of the juice to 40, 45 and 50°C. The preheated juice was then passed through a continuous PEF system. The process chamber of the PEF system consists of two parallel stainless steel electrodes with 0.55 mm distance. The length and width of the exposed electrode surface were 10 mm and 0.5 mm, respectively. A square-wave bipolar pulse with a width of 1 ms was selected to perform the treatment within the range of 22.73 to 36.36 kV/cm at 32 Hz. The outlet temperature of the juice was recorded using a data acquisition system during 3.52 s PEF treatment. The treated juice was cooled in an ice-water bath to minimize the effect of cooling period on PME inactivation. AA content, PME activity, cloud value and color of the juice were measured using iodine titration, Kimball, spectroscopy and image processing, respectively.

Results and discussion: Results showed that higher PME inactivation was observed in the juices treated at higher IR pre-heating temperature in combination to higher PEF intensity, resulting in higher cloud stability of the juice. While preheating of the juice decreased the AA content, PEF treatment has no significant effect reflecting the heat sensitivity of this vitamin. Furthermore, color aspects of the juice were more affected by heating treatment in comparison to the PEF processing. Browning index (BI) increased as the AA content decreased. By measuring the total color difference (TCD) it was shown that the PEF had no impact on color properties of the juice. Therefore, the synergistic effect between the IR heating and PEF treatment was also effective in producing the juice having the high nutritional value and better appearance.

Keywords: Infrared, Pulsed electric field, Tomato juice, Ascorbic acid, Pectin methylesterase, Color aspects

1, 2 and 3. Ph. D. Candidate, Associate Professor and Professor , Department of Food Processing Engineering, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

4. Assistant Professor, Faculty of Biosystem, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

(*Corresponding Author Email: ziaifar@gau.ac.ir)

مطالعه سینتیک تخریب حرارتی دینامیکی بیوپلاستیک حاصل از آمیخته ژلاتین پای مرغ و آرد کامل سیب‌زمینی

حسام عمرانی فرد¹ - محمدحسین عباسپور فرد^{2*} - مهدی خجسته پور³ - علی دشتی⁴

تاریخ دریافت: 1397/04/13

تاریخ پذیرش: 1397/10/25

چکیده

در این مطالعه، سینتیک تخریب حرارتی دینامیکی بیوپلاستیک تهیه شده از آمیخته ژلاتین پای مرغ - آرد کامل سیب‌زمینی و نمونه شاهد که متشکل از آرد کامل سیب‌زمینی بود، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. ژلاتین استفاده شده در این مطالعه از نوع مرغی بود که با استفاده از روش‌های شیمیایی از پای مرغ استخراج شد. در این پژوهش دو مدل ایزوکانورژنال انتگرالی شامل مدل فلین - وال - اوزاوا (FWO) و کیسینجر - آکاهیرا - سانوز (KAS) در نظر گرفته شد که با استفاده از هر کدام از این مدل‌ها، پارامترهای سینتیک تخریب حرارتی شامل انرژی فعال‌سازی و ضریب بسامد برای نمونه‌های بیوپلاستیک محاسبه گردید. نتایج نشان داد که بیشینه‌ی انرژی فعال‌سازی محاسبه شده برای بیوپلاستیک آمیخته (GC) به روش FWO در نسبت تبدیل 0/9 و برابر 162kJ/mol و پس از آن در نسبت تبدیل 0/5 و برابر 150kJ/mol است، در حالی که بیشینه انرژی فعال‌سازی بیوپلاستیک شاهد (P) در نسبت تبدیل 0/6 و برابر 217kJ/mol مشاهده شد. مقادیر بدست آمده برای ضریب بسامد نیز نشان داد این پارامتر بین $1/27 \times 10^{14} \text{ 1/min}$ تا $1/25 \times 10^{14} \text{ 1/min}$ برای بیوپلاستیک آمیخته و برای بیوپلاستیک شاهد بین $1/94 \times 10^{14} \text{ 1/min}$ تا $1/82 \times 10^{14} \text{ 1/min}$ بسته به تغییرات نسبت تبدیل و نرخ‌های مختلف گرمادهی، تغییر می‌کند.

واژه‌های کلیدی: انرژی فعال‌سازی، بیوپلاستیک، ژلاتین، سیب‌زمینی، سینتیک تخریب حرارتی.

مقدمه

رایج‌ترین پلیمرهای زیستی در ساخت بیوپلاستیک‌ها بوده و در بین پلیمرهای زیستی، پرکاربردترین بیوپلاستیک را تولید می‌کند (اولیایی و همکاران، 1396). با وجود این نشاسته به دلیل داشتن برخی معایب مانند مقاومت ضعیف مکانیکی و شکننده بودن، نمی‌تواند به تنهایی بیوپلاستیک مطلوبی را تولید کند (عمرانی فرد و همکاران، 1391). یکی از روش‌های جدید برای بهبود خواص مکانیکی بیوپلاستیک‌های نشاسته‌ای، تولید بیوپلاستیک‌های آمیخته است. در این بیوپلاستیک‌ها از ترکیب یک یا چند پلیمر زیستی، پیوندهای مولکولی نسبتاً قوی‌ای را در ساختار بیوپلاستیک ایجاد می‌کنند که باعث بهبود خواص کاربردی بیوپلاستیک‌های حاصل می‌شود. پروتئین‌ها یکی از این پلیمرهای زیستی هستند که در منابع گیاهی و حیوانی متعددی وجود دارند. پروتئین‌ها در ترکیب با نشاسته، شبکه‌ای محکم از پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های بین مولکولی را تشکیل داده و می‌توانند مواد سه‌بعدی باثباتی را تولید کنند (Pommet *et al.*, 2003). یکی از این منابع پروتئینی، ژلاتین پای مرغ است که از پسماندهای صنایع پرورش طیور

صنایع پلاستیکی، از مهم‌ترین بخش‌های زباله‌های شهری محسوب می‌شوند که به دلیل عدم زیست تخریب‌پذیری، آلودگی‌های زیست محیطی فراوانی را به وجود آورده‌اند. سه راه دفن کردن، سوزاندن و بازیافت، برای غلبه بر مشکل آلودگی پلاستیک‌ها پیشنهاد شده که در بیشتر مواقع به دلیل کمبود منابع و امکانات و از طرفی عدم وجود مدیریت مناسب در جمع‌آوری زباله‌های پلاستیکی، نتیجه‌ی لازم را به صورت پایدار به وجود نیاورده است. برای غلبه بر این مشکلات، بسیاری از محققین به دنبال تولید پلاستیک‌های زیست تخریب‌پذیر از جمله بیوپلاستیک‌ها هستند. ماده اصلی بیوپلاستیک‌ها، پلیمرهایی هستند که از مواد زیستی به دست می‌آیند (داورپناه و همکاران، 1393). نشاسته یکی از مهم‌ترین پلیمرهای گیاهی است که در میان پلیمرهای زیستی نسبتاً فراوان بوده و قیمت پایینی دارد. این پلیمر در محصولات کشاورزی نظیر گندم، ذرت، حبوبات و سیب‌زمینی به میزان زیادی یافت می‌شود. نشاسته به علت داشتن ماهیت پلیمری مناسب، یکی از

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

DOI: 10.22067/ijfst.v15i2.73891

1، 2 و 3- دانشجوی دکتری، استاد و دانشیار، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

4- دانشیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد.

آمده از آزمون آزمایشگاهی، از طریق مدل‌های ریاضی و به کمک نرم‌افزارهای پردازش کامپیوتری، مقادیر ثابت‌های سینتیک حرارتی شامل انرژی فعال‌سازی² و ثابت نمایی یا ضریب بسامد³ تعیین می‌شود (Vyazovkin *et al.*, 2011). مطالعات متعددی به منظور بررسی تخریب حرارتی بیوپلاستیک‌ها انجام شده است (Swain *et al.*, 2008; Das *et al.*, 2005). بر اساس یک مطالعه در تخریب حرارتی بیوپلاستیک‌های حاصل از پروتئین سویا، پنج مرحله مختلف مشاهده شد. اولین مرحله (تا دمای 237°C) که مربوط به از دست رفتن رطوبت و شکست ساختار چهارم پروتئین‌ها است. دو مرحله بعدی (از دماهای 243 تا 382°C و بین 388 تا 583°C) مربوط به شکست پیوندهای مختلف مانند پیوندهای کوالانسی بین پپتیدها و شاخه‌های عرضی مولکول‌های پروتئین به ترتیب شامل S-S، O-N و O-O می‌باشد. مرحله چهارم (بین دماهای 589 تا 710°C) مربوط به تخریب حرارتی پروتئین با تولید مواد فرار است و در نهایت بیش از 710°C که تنها بخش خاکستر باقی می‌ماند (Swain *et al.*, 2005). در پژوهشی دیگر در بررسی تخریب حرارتی بیوپلاستیک‌های ساخته شده از گلوتن و گلیسرول چهار مرحله قابل تمایز گزارش شد. دو مرحله اول مربوط به از دست رفتن رطوبت (زیر 200°C) و گلیسرول (از 200 تا 290°C) می‌باشد و مرحله سوم (بین دماهای 290 تا 340°C) و چهارم (بالای 340°C) مربوط به شکست پیوندهای مختلف شامل پیوندهای کوالانسی پپتید در اسید آمینه‌های باقی‌مانده و یا شاخه‌های عرضی مولکول‌های پروتئین شامل S-S، O-N و O-O می‌باشد (Sun *et al.*, 2007).

بررسی سینتیک تخریب حرارتی در حالت میکروسکوپی شامل چندین مرحله هم‌زمان است که احتیاج به روش‌های محاسباتی مخصوصی دارد. در حال حاضر کنفدراسیون بین‌المللی آنالیز حرارتی و کالریتری (ICTAC)⁴ روش‌های ایزوکانورژنال⁵ را پیشنهاد داده‌اند که قادر هستند پیچیدگی‌های حاکم بر فرآیند تخریب حرارتی مواد را به خوبی در تفسیر نتایج در نظر بگیرند (Vyazovkin *et al.*, 2011; Vyazovkin *et al.*, 2014). این روش‌ها اطلاعات مربوط به تخریب حرارتی مواد را حین برنامه‌های مختلف حرارتی مورد بررسی قرار داده و توزیع انرژی فعال‌سازی را به‌عنوان تابعی از پیشرفت واکنش محاسبه می‌کنند (Vyazovkin *et al.*, 2014). تغییر انرژی فعال‌سازی، پیچیدگی فرآیند تخریب حرارتی را در مراحل مختلف تبدیل نشان می‌دهد. در حالت عمومی زمانی که واکنش‌دهنده‌ها فاز گازی شکل دارند، انرژی فعال‌سازی در طول فرآیند ثابت است در حالی که برای واکنش‌دهنده‌هایی که متراکم بوده و یا فاز جامد دارند، انرژی فعال‌سازی تابعی از ویژگی‌های مرتبط با دما و پیشرفت واکنش است (Dhyani

در کشور محسوب می‌شود. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد ژلاتین پای مرغ، خواصی قابل رقابت با ژلاتین‌های تجاری داشته و توانایی تولید بیوپلاستیک را دارد (Widyasari & Hashim, 2014; Hashim *et al.*, 2014).

در بیشتر مطالعات گذشته، تولید بیوپلاستیک‌ها اغلب با روش ریخته‌گری و به صورت فیلم بوده که نمونه‌ها پس از 24 تا 72 ساعت به دست می‌آیند (Chuanukul *et al.*, 2015). حجم محصول در این مطالعات بسیار کم و به صورت فیلم‌های دو بعدی و تک شکل هستند که از جهت تولید تجاری تنها به‌عنوان مطالعات اولیه محسوب می‌شوند. صنعتی‌سازی تولید بیوپلاستیک‌ها با روش‌های مختلف قالب‌گیری، امکان تولید حجم‌های سه‌بعدی دلخواه در مدت زمان کوتاه را فراهم می‌آورد (عمرانی فرد و همکاران، 1391). از مهم‌ترین مشکلات موجود در تجاری‌سازی بیوپلاستیک‌های آمیخته در کشور، عدم وجود ماشین‌آلات صنعتی به‌منظور تولید پیوسته بیوپلاستیک‌ها با استفاده مستقیم از پلیمرهای زیستی است. تولید صنعتی بیوپلاستیک‌ها معمولاً با تجهیزاتی انجام می‌پذیرد که در آن‌ها حرارت و فشار یکجا اعمال می‌شود. اطلاع از سینتیک تخریب حرارتی بیوپلاستیک‌ها جهت مطالعه رفتار حرارتی در دماهای مختلف به‌منظور طراحی دستگاه‌های فرآوری و قالب‌گیری بیوپلاستیک‌ها، مدل‌سازی نرم‌افزاری فرآیندها، تعادل جرم و انرژی و بهینه‌سازی مصرف انرژی در فرآیند تولید در کنار بهبود خصوصیات حرارتی بیوپلاستیک‌ها، ضروری است.

تخریب حرارتی بیوپلاستیک‌ها شامل تمام تغییرات مرتبط با ساختار شیمیایی و ویژگی‌های فیزیکی است که با تنش‌های حرارتی خارجی اتفاق افتاده و طبیعتی پیچیده دارد. افزایش بیش از اندازه حرارت باعث ایجاد شکست‌های مولکولی شده و به دنبال آن توزیع وزن مولکولی ماده را تغییر می‌دهد. این افزایش حرارت در هر ماده زیستی و غیرزیستی باعث ایجاد تغییرات شیمیایی و فیزیکی متنوع نظیر ذوب، تصعید، شکست ساختاری، تخریب و غیره می‌شود (Das & Tiwari, 2017). آنالیز وزن‌سنجی حرارتی (TGA)¹ روشی علمی جهت بررسی روند تخریب حرارتی پلیمرها است که ضمن تبیین رفتار حرارتی پلیمرها، چنانچه به‌صورت دینامیکی و تحت برنامه‌های حرارتی مختلف انجام شود، می‌توان سینتیک تخریب حرارتی پلیمرها را نیز مورد بررسی قرار داد. مطالعه سینتیک تخریب حرارتی، یک فرآیند دو مرحله‌ای است. در مرحله اول با استفاده از دستگاه وزن‌سنجی حرارتی، آزمون تخریب حرارتی تا تجزیه کامل مواد انجام می‌شود. در این دستگاه با افزایش حرارت از دمای محیط تا دماهایی بالاتر از 600°C که تخریب کامل مواد اتفاق می‌افتد، تغییر وزن نمونه‌ها به‌عنوان تابعی از افزایش دما به‌صورت پیوسته ثبت می‌شود. در مرحله دوم با استفاده از مقادیر به‌دست

4 International Confederation of Thermal Analysis and Calorimetry (ICTAC)
5 Isoconversional methods

1 Thermogravimetric analysis (TGA)
2 Activation energy
3 Frequency factor

همچنین نتایج نشان داد نوع روش استفاده شده برای تخمین پارامترهای سینتیکی، بر میزان مقادیر محاسبه شده تأثیر می‌گذارد (Das & Tiwari, 2017).

در پژوهش‌های گذشته، هنوز مطالعه دقیقی بر روی سینتیک تخریب حرارتی بیوپلاستیک‌های آمیخته شامل ژلاتین پای مرغ و آرد کامل سیب‌زمینی وجود ندارد. در این مطالعه، سینتیک تخریب حرارتی دینامیکی بیوپلاستیک‌های تهیه شده از آمیخته ژلاتین و آرد کامل سیب‌زمینی (GC)¹ با نمونه شاهد که متشکل از آرد کامل سیب‌زمینی (P)² به تنهایی بود، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. ژلاتین استفاده شده در این مطالعه از نوع مرغی و با استفاده از روش‌های شیمیایی از پای مرغ استخراج شد و اثر اضافه کردن آن در سینتیک تخریب حرارتی بیوپلاستیک‌های ساخته شده مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی، ضمن تبیین رفتار حرارتی بیوپلاستیک‌های ساخته شده از آمیخته ژلاتین و سیب‌زمینی، به‌عنوان مطالعات اولیه در طراحی دستگاه‌های قالب‌گیری بیوپلاستیک‌های آمیخته سیب‌زمینی و بهینه‌سازی مصرف انرژی در فرآیند شکل‌دهی بیوپلاستیک‌ها نیز کمک خواهد کرد.

مواد و روش‌ها

پای مرغ استفاده شده در این پژوهش از شرکت طیوران مشهد (Toyooran, Mashhad) تهیه شد. مرغ‌ها همگی از نژاد راس³ بود که پس از 45 روز کشتار شده بودند. محصول تهیه شده پس از خریداری از کشتار روز و قبل از استخراج ژلاتین، در داخل فریزر با دمای 14°C- نگاهداری شد. برای تهیه آرد کامل سیب‌زمینی، از سیب‌زمینی‌های رقم آگریا⁴ استفاده شد. سیب‌زمینی‌های تهیه شده پس از شستشوی اولیه، آب پز شد و پس از پوست کندن کوبیده شد. پوره سیب‌زمینی در آون با دمای 70°C به مدت 24 ساعت خشک شد و پس از آسیاب کردن، برای ایجاد موادی با دانه‌بندی یکنواخت، از الک با مش 70 عبور داده شد. اجزای تشکیل دهنده آرد حاصل عبارت بود از: نشاسته 83/84 ± 0/62%، پروتئین 9/57 ± 1/14%، فیبر خام 1/58 ± 0/21%، چربی 0/99 ± 0/18% و خاکستر 4/02 ± 0/26%. برای ساخت بیوپلاستیک‌های آمیخته ژلاتین و آرد کامل سیب‌زمینی از روان‌کننده گلیسرول ساخت شرکت مرک آلمان (Darmstadt, Germany) استفاده شد.

(et al., 2017). روش‌های ایزوکانورژنال برای بررسی سینتیک تخریب حرارتی در پلیمرهای مختلف استفاده شده است. در بیشتر مطالعات گذشته، استفاده از روش‌های ایزوکانورژنال تا حد مطلوبی توانسته موارد کاربردی و رفتار حرارتی مواد مختلف را به خوبی مدل‌سازی و تفسیر کند.

در پژوهشی، به‌منظور بررسی ثبات حرارتی و سینتیک تجزیه حرارتی رزین‌های کتون، از روش‌های مختلف ایزوکانورژنال استفاده شد. نتایج این پژوهش نشان داد ثبات حرارتی رزین‌های مطالعه شده تا دمایی حدود 200°C بوده و مقادیر انرژی فعال‌سازی محاسبه شده در بازه 30 تا 41kJ/mol قرار می‌گیرد (Uttaravalli & Dinda, 2017). نتایج پژوهشی دیگر در بررسی سینتیک تخریب حرارتی کاه سورگوم با استفاده از روش‌های ایزوکانورژنال نشان داد مقادیر محاسبه شده برای انرژی فعال‌سازی در سه منطقه‌ی حرارتی و با بیشینه‌هایی به‌ترتیب برابر 151/21، 116/15 و 136/65kJ/mol قرار دارد. مقادیر ضریب بسامد محاسبه شده برای کاه سورگوم نشان داد این مقادیر با تغییر نسبت تبدیل و همچنین نرخ گرمادهی تغییر می‌کند و در بازه‌ی بین $5/4 \times 10^{11}$ تا 11/431/s قرار می‌گیرد (Dhyani et al., 2017).

در مطالعه‌ی سینتیک تخریب حرارتی چند نوع الیاف طبیعی که در صنعت کمپوزیت استفاده می‌شوند بررسی شد. این الیاف عبارت بودند از: الیاف بامبو، کنف، بوته‌ی شاهدانه، کنف هندی، الیاف حاصل از چوب درختان شامل الیاف درخت کاج و درخت افرا و همچنین بقایای گیاهی مزارع کشاورزی شامل کاه و شلتوک برنج، باکاس و ساقه پنبه. بررسی سینتیک تخریب حرارتی نشان داد برای بیشتر الیاف حدود 60% از تخریب حرارتی بین بازه‌ی دمایی 215 تا 310°C اتفاق می‌افتد. همچنین برای بیشتر الیاف مورد بررسی، انرژی فعال‌سازی در بازه دماهای فرآوری پلیمرها، بین 160 تا 170kJ/mol تغییر می‌کند (Yao et al., 2008).

در پژوهشی دیگر تخریب حرارتی سه پلیمر نفتی شامل پلی‌اتیلن با چگالی پایین و بالا (LDPE و HDPE) و پلی‌پروپیلن (PP)، در کنار پلیمر زیست تخریب‌پذیر پلی‌لاکتیک اسید (PLA) با استفاده از آنالیز تخریب حرارتی دینامیکی مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از روش‌های مختلف ریاضی، پارامترهای سینتیک تخریب حرارتی محاسبه شد. بر اساس نتایج این مطالعه، انرژی فعال‌سازی به‌دست آمده برای این پلیمرها با تغییر نسبت تبدیل در طول فرآیند تغییر می‌کرد به‌طوری‌که انرژی فعال‌سازی برای LDPE در بازه 162 تا 242kJ/mol برای HDPE در بازه 146 تا 241kJ/mol، برای PP در بازه 136 تا 173kJ/mol و برای PLA در بازه 99 تا 113kJ/mol قرار داشت.

3- Ross
4- Agria

1- Gelatin extracted from chicken feet blending with potato whole flour (GC)
2- Potato whole flour (P)

استخراج ژلاتین

پای مرغ تهیه شده پس از یخ‌زدایی، شستشو و تمیز کردن، به قطعات 0/5 سانتی‌متری تقسیم شد و پس از حذف استخوان‌ها، مواد باقی‌مانده به‌عنوان ماده اولیه برای استخراج ژلاتین مورد استفاده قرار گرفت. این روش مطابق با روش استفاده شده توسط (Irwandi *et al.*, 2009) انجام شد. قطعات کوچک پای مرغ ابتدا در محلول 0/2 درصد هیدروکسید سدیم خیسانده شد تا مواد غیرکلاژنی حذف شود. این مخلوط به مدت 40 دقیقه در دمای 22-28°C بهم زده شد. سپس محلول قلیایی تخلیه شد و مواد باقی‌مانده سه مرتبه با آب مقطر شسته شد. پس از تیمار قلیایی، مواد نامطلوب حذف شده و بافت باقی‌مانده

نرم و آماده‌ی استخراج ژلاتین شد. سپس نمونه‌ها به مدت 40 دقیقه در محلول اسید استیک 0/2 درصد خیسانده شد و پس از حذف محلول اسیدی و شستشو، pH مواد باقی‌مانده نرمال شد. مرحله نهایی استخراج ژلاتین با آب مقطر (به نسبت 9 سهم آب و 1 سهم پای مرغ) و به مدت 90 دقیقه با دمای 70 درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد. مواد باقی‌مانده پس از عبور از صافی با استفاده از یک خشک‌کن انجمادی (Pishtaz Engineering Co.) خشک شد و سپس آسیاب شد تا پودر ژلاتین تهیه شود. در جدول 1، اجزای تشکیل‌دهنده پای مرغ و ژلاتین استخراج شده از آن آورده شده است.

جدول 1- آنالیز اجزای تشکیل‌دهنده پای مرغ و ژلاتین استخراج شده در این پژوهش

نوع ماده	اجزا (% وزنی)			
	رطوبت	پروتئین	کربوهیدرات	چربی
پای مرغ	61/56 ± 1/80	17/25 ± 1/28	18/33 ± 2/15	2/69 ± 0/58
ژلاتین استخراج شده	5/57 ± 0/78	89/17 ± 1/76	3/76 ± 1/10	1/37 ± 0/18

شکل‌دهی بیوپلاستیک‌ها

برای تهیه نمونه‌ها از روش قالب‌گیری فشاری مطابق با روش استفاده شده توسط (Jerez *et al.*, 2007) استفاده شد. برای این منظور، برای تیمار شاهد: 70% وزنی آرد کامل سیب‌زمینی با 30% وزنی گلیسرول و برای تیمار آمیخته: 20% ژلاتین، 50% آرد کامل سیب‌زمینی و 30% گلیسرول با همزن آشپزخانه به مدت نیم ساعت مخلوط شدند. سپس خمیر حاصل در قالب پیش گرم شده با دمای 120°C ریخته شد و به مدت 7 دقیقه تحت فشار 10MPa قرار گرفت. در نهایت نمونه‌ها از قالب خارج شد و پیش از آزمون به مدت 24 ساعت در شرایط محیطی قرار داده شد.

آنالیز تخریب حرارتی

آنالیز تخریب حرارتی دینامیکی به‌وسیله دستگاه وزن‌سنجی حرارتی مدل TGA50, Shimadzu, Japan انجام شد. نمونه‌های بیوپلاستیک در این دستگاه از دمای محیط تا دمای 750°C با 4 نرخ گرمادهی مختلف (30°C/min، 20، 10، 5) حرارت داده شد. این آزمون در صفحه پلاتینی و در مجاورت جریان نیتروژن با آهنگ 50mL/min انجام شد. نتایج اولیه‌ی این آنالیز، بر اساس درصد جرم باقی‌مانده از جرم اولیه نمونه‌ها در هر دما برای نرخ‌های مختلف گرمادهی آورده شد. مقادیر بدست آمده از تغییرات جرم نمونه‌ها با افزایش درجه حرارت برای نرخ‌های مختلف حرارت‌دهی، به‌منظور محاسبه پارامترهای سینتیک تخریب حرارتی استفاده شد.

بررسی سینتیک تخریب حرارتی

وقتی به یک نمونه حرارت داده می‌شود، جرم آن به تدریج کم می‌شود. نرخ تغییر جرم نمونه یا نرخ تبدیل به‌طور کلی از معادله بنیادی زیر تبعیت می‌کند که در تمام مدل‌های مورد بررسی در این پژوهش در حالت عمومی به صورت معادله 1 است (Vyazovkin *et al.*, 2014):

$$d\alpha/dt = kf(\alpha) \quad (1)$$

k ثابت سینتیک، $d\alpha/dt$ نرخ تبدیل و $f(\alpha)$ مدل واکنش و تابعی از مکانیزم واکنش واقعی می‌باشد. در این معادله نرخ تبدیل در یک درجه حرارت ثابت به‌عنوان تابعی از کاهش غلظت واکنش‌دهنده و با نرخ ثابت معرفی می‌شود. در این مطالعه، نسبت تبدیل α به‌صورت معادله 2 تعریف شده است:

$$\alpha = (W_0 - W_t)/(W_0 - W_f) \quad (2)$$

در این معادله، W_0 ، W_t و W_f به‌ترتیب معرف وزن نمونه در زمان t ، وزن اولیه و وزن نهایی نمونه هستند. پارامتر ثابت سینتیک k ، در حالت عمومی بر اساس معادله آرنیوس و به‌صورت معادله 3 تعریف می‌شود (Vyazovkin *et al.*, 2011):

$$k = A \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) \quad (3)$$

در این رابطه، E انرژی فعال‌سازی ظاهری (kJ/mol)، R ثابت عمومی گازها (8.314472 J/(mol.K))، A پارامتر ثابت نمایی یا ضریب بسامد (1/min) و T درجه حرارت مطلق (K) هستند. با ترکیب معادله 1 و 3، معادله 4 به‌دست می‌آید:

در روش فلین - وال - اوزاوا (FWO) ¹ (Flynn, 1997; Ozawa, 1965) برای برآورد انتگرال دما، از تقریب ارائه شده به وسیله دوپل (Doyle, 1962) که در رابطه 9 آورده شده، استفاده می‌شود:

$$p(x) \cong \exp(-2.315 + 0.4567x) \quad (9)$$

بنابراین رابطه استفاده شده در روش FWO را می‌توان بر اساس رابطه 10 نوشت:

$$\ln \beta_i = \text{Const.} - 1.052 \left(\frac{E_\alpha}{RT_{\alpha,i}} \right) \quad (10)$$

E_α در رابطه 10 با محاسبه شیب نمودارهای $\ln \beta_i$ در مقابل $1/T_i$ برای هر α به دست می‌آید. روش FWO معمول‌ترین روش ایزوکانونرژنال است که نسبت به روش‌های مختلف مطالعه سینتیک بیشتر استفاده می‌شود (Vyazovkin et al., 2011; Vyazovkin et al., 2014).

در روش کیسینجر - آکاهیرا - سانوز (KAS) ² (Akahira & Sunose, 1971)، برای محاسبه انتگرال دما از تقریب ارائه شده توسط مورای و وایت (Murray & White, 1955) به صورت معادله 11 استفاده می‌شود:

$$p(x) \cong \frac{e^{-x}}{x^2} \quad (11)$$

بنابراین روش KAS به صورت معادله 12 بیان می‌شود:

$$\ln \left(\frac{\beta_i}{T_{\alpha,i}^2} \right) = \text{const.} - \frac{E_\alpha}{RT_{\alpha,i}} \quad (12)$$

E_α موجود در رابطه 12 با محاسبه شیب نمودارهای $\ln(\beta_i/T_i^2)$ در مقابل $1/T_i$ برای مقادیر مختلف α به دست می‌آید. روش KAS در مقایسه با روش FWO روش دقیق‌تری محسوب می‌شود (Vyazovkin et al., 2014).

محاسبه ثابت نمایی یا ضریب بسامد

اگرچه روش‌های ایزوکانونرژنال مقادیر انرژی فعال‌سازی را خیلی دقیق فراهم می‌کنند اما این روش‌ها ضریب بسامد را برای واکنش‌دهنده‌ها محاسبه نمی‌کنند. برای محاسبه هر دو پارامتر انرژی فعال‌سازی و ضریب بسامد، معادله کیسینجر مطابق با رابطه 13 می‌تواند استفاده شود (Kim, 2010; Yuan et al., 2017):

$$\ln \left(\frac{\beta}{T_m^2} \right) = -\frac{E}{RT_m} + \ln \left(\frac{AR}{E} \right) \quad (13)$$

$$d\alpha/dt = A \exp \left(-\frac{E}{RT} \right) f(\alpha) \quad (4)$$

در یک فرآیند TGA دینامیکی، نرخ افزایش حرارت (β) ثابت بوده و دما در هر لحظه بر اساس معادله 5 تعریف می‌شود:

$$T = \beta t + T_0 \rightarrow dT/dt = \beta \quad (5)$$

با جایگذاری معادله 5 در معادله 4، معادله 6 به دست می‌آید:

$$d\alpha/dT = (A/\beta) \exp(-E/RT) f(\alpha) \quad (6)$$

معادلات 4 و 6، معادله‌های اساسی در محاسبه پارامترهای سینتیک تخریب حرارتی بر اساس داده‌های آزمون TGA هستند. دو پارامتر اساسی موجود در معادله 6 عبارتند از: E (انرژی فعال‌سازی) و A (پارامتر ثابت نمایی یا ضریب بسامد). انرژی فعال‌سازی یک واکنش‌دهنده میزان انرژی مورد نیاز برای تحریک واکنش‌دهنده‌ها به یک حالت فعال است که در آن واکنش اتفاق می‌افتد. این انرژی برای شکستن پیوندهای اساسی و تولید یک ترکیب فعال یا حالت گذار استفاده می‌شود که در طی آن واکنش‌های بیشتر به وسیله خود ماده انجام می‌شود (Vyazovkin et al., 2011). پارامتر ثابت نمایی یا ضریب بسامد می‌تواند به عنوان تعداد برخورد در واحد زمان که در جهت صحیح اتفاق می‌افتد تا واکنش انجام شود، تعریف شود (Vyazovkin et al., 2014).

در حین انجام محاسبات سینتیک، اغلب شکل انتگرالی مدل واکنش در قالب پارامتر α ، به صورت معادله 7 در نظر گرفته می‌شود (Dhyani et al., 2017):

$$g(\alpha) = \int_0^\alpha \frac{d\alpha}{f(\alpha)} = A \int_0^{t_\alpha} \frac{-E}{e^{RT}} dt \quad (7)$$

روش‌های ایزوکانونرژنال انتگرالی برای تعیین انرژی فعال‌سازی

برای یک فرآیند غیر هم‌دما با نرخ افزایش حرارت ثابت، معادله 7 به صورت معادله 8 خواهد بود (Dhyani et al., 2017):

$$g(\alpha) = \frac{A}{\beta} \int_0^T \frac{-E}{e^{RT}} dT = \frac{AE}{\beta R} p(x) \quad (8)$$

در این رابطه، جمله $p(x)$ ، راه حل تحلیلی ندارد. بنابراین روش‌های مختلف ایزوکانونرژنال انتگرالی بر اساس فرضیات مختلف ریاضی برای جمله $p(x)$ می‌باشد.

میزان انرژی فعال‌سازی بر اساس روش KAS در رابطه 14 محاسبه شد.

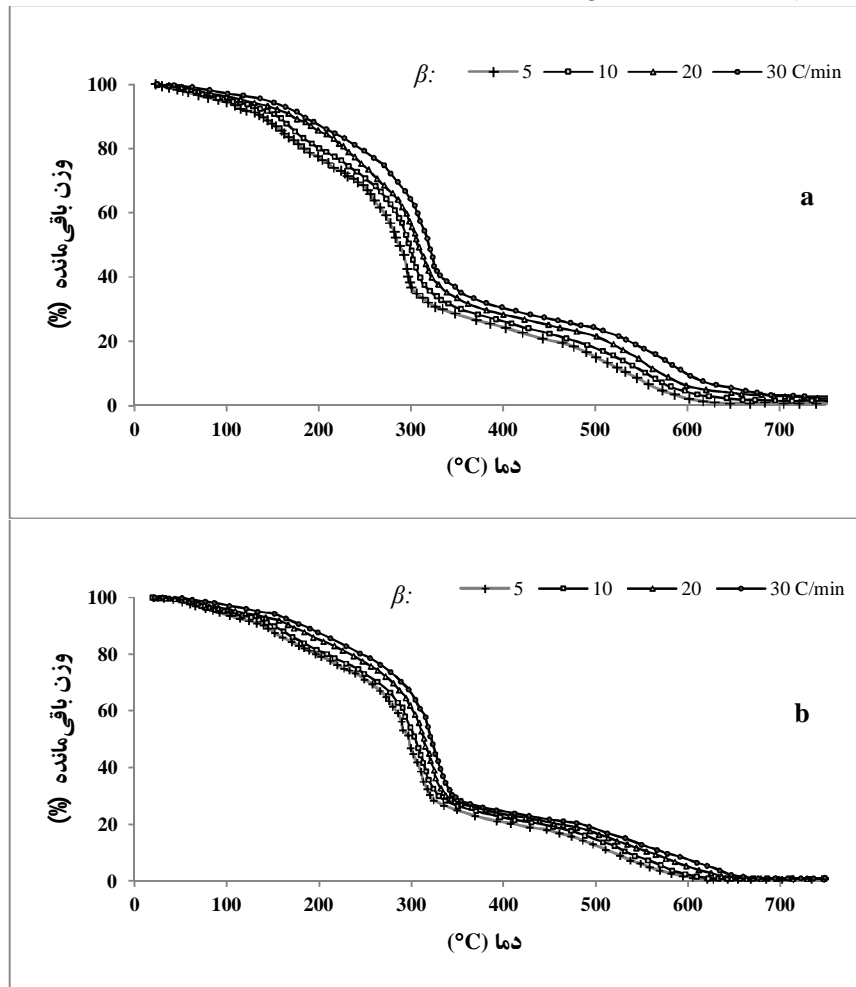
نتایج و بحث

نتایج آزمون تخریب حرارتی برای بیوپلاستیک‌های آمیخته ژلاتین و آرد کامل سیب‌زمینی (GC) و نمونه شاهد (P) که آرد کامل سیب‌زمینی به تنهایی استفاده شده بود، در شکل 1 نشان داده شده است که تغییر درصد وزنی باقی‌مانده دو نوع بیوپلاستیک با افزایش حرارت از دمای محیط تا دمای 750°C را در نرخ‌های مختلف افزایش دما و 1-a، با افزایش نرخ گرمادهی در هر دو نوع بیوپلاستیک، مقاومت حرارتی نیز بیشتر می‌شود.

در این رابطه، T_m دمای بیشینه نمودار DTG یا دمایی است که در آن نرخ تبدیل بیشینه است. اگرچه روش کیسینجر بر اساس چند برنامه حرارت‌دهی استوار است اما در کل فرآیند تنها یک مقدار برای انرژی فعال‌سازی (متناظر با شیب نمودار $\ln(\beta/T_m^2)$ در مقابل $1/T_m$ برای مقادیر مختلف نرخ گرمادهی) محاسبه می‌شود (عمرانی‌فرد و همکاران، 1391). اما با استفاده از این روش چنانچه مقدار انرژی فعال‌سازی برای مقادیر مختلف از نسبت تبدیل وجود داشته باشد، می‌توان مقدار ضریب بسامد را از رابطه 14 محاسبه کرد:

$$A_{\alpha} = \frac{\beta E_{\alpha} \exp\left(\frac{E_{\alpha}}{RT_m}\right)}{RT_m^2} \quad (14)$$

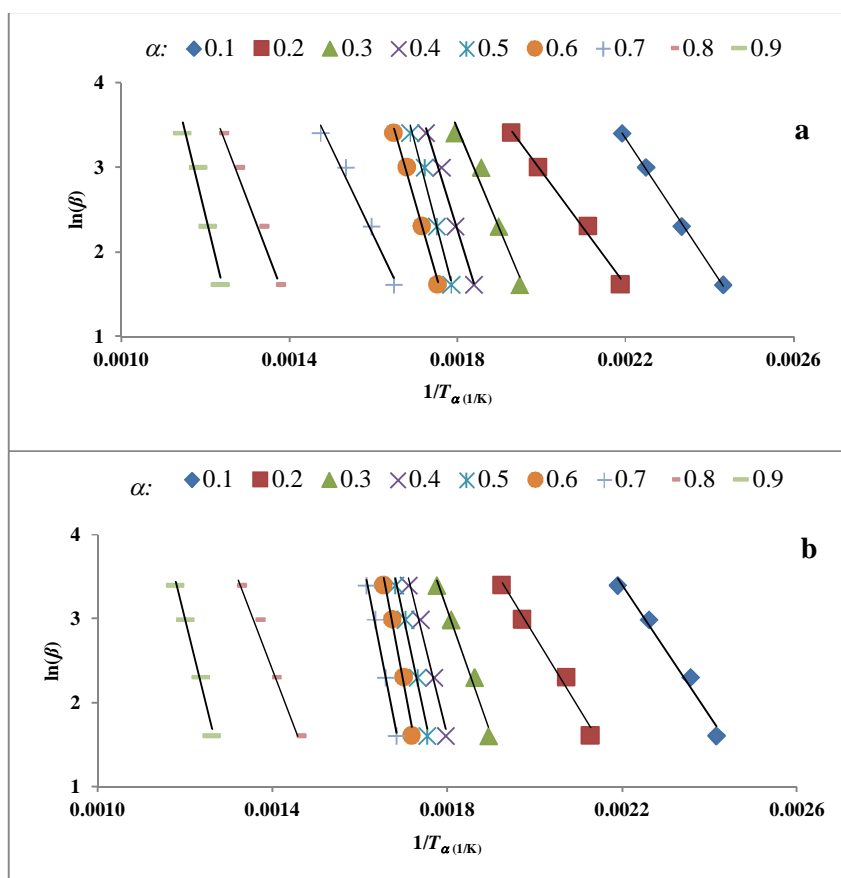
در این پژوهش، پس از مشتق‌گیری از نمودارهای TG در نرم‌افزار متلب و استخراج نقاط اکسترمم، ضریب بسامد بر اساس جایگذاری



شکل 1- نتایج آنالیز تخریب حرارتی بر اساس درصد وزنی باقی‌مانده برای بیوپلاستیک آمیخته (a) و بیوپلاستیک شاهد (b) در نرخ‌های حرارتی مختلف (β)

به‌عنوان مثال چنانچه در هر دما خطی عمودی به نتایج نمودارهای شکل 1، رسم شود، مشاهده می‌شود که در نرخ گرمادهی $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ بیشترین کاهش جرم و در نرخ گرمادهی $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$ کمترین کاهش جرم در هر دو نوع پلاستیک مشاهده می‌شود. زیرا در نرخ‌های گرمادهی پایین، نمونه‌ها مدت زمان بیشتری در معرض حرارت قرار می‌گیرند تا به دمای مشخص برسند در حالی که در نرخ‌های دمایی بالا این مدت زمان کمتر است و در نتیجه تجزیه کمتری صورت می‌گیرد. مطالعات گذشته بر روی تخریب حرارتی مواد مختلف نیز نتایج مشابهی را با تغییر نرخ گرمادهی نشان می‌دهد (Das & Tiwari, 2017; Uttaravalli

2017; Dinda, 2017; Dhyani et al., 2017; Yao et al., 2008). برای این نتیجه دلایل متعددی از قبیل تغییر در اعمال نرخ حرارتی و در نتیجه تغییر مکانیزم تخریب حرارتی و همچنین انتقال حرارت ناکافی از مولد گرمایی به داخل نمونه‌ها در نرخ‌های حرارتی بالا بیان شده است. با این وجود می‌توان گفت که در نمونه‌های کوچک‌تر، دلیل دوم کم اثرتر می‌شود. بنابراین همان دلیل تغییر مکانیزم تخریب حرارتی با تغییر نرخ گرمادهی منطقی‌تر به نظر می‌رسد (Das & Tiwari, 2017).



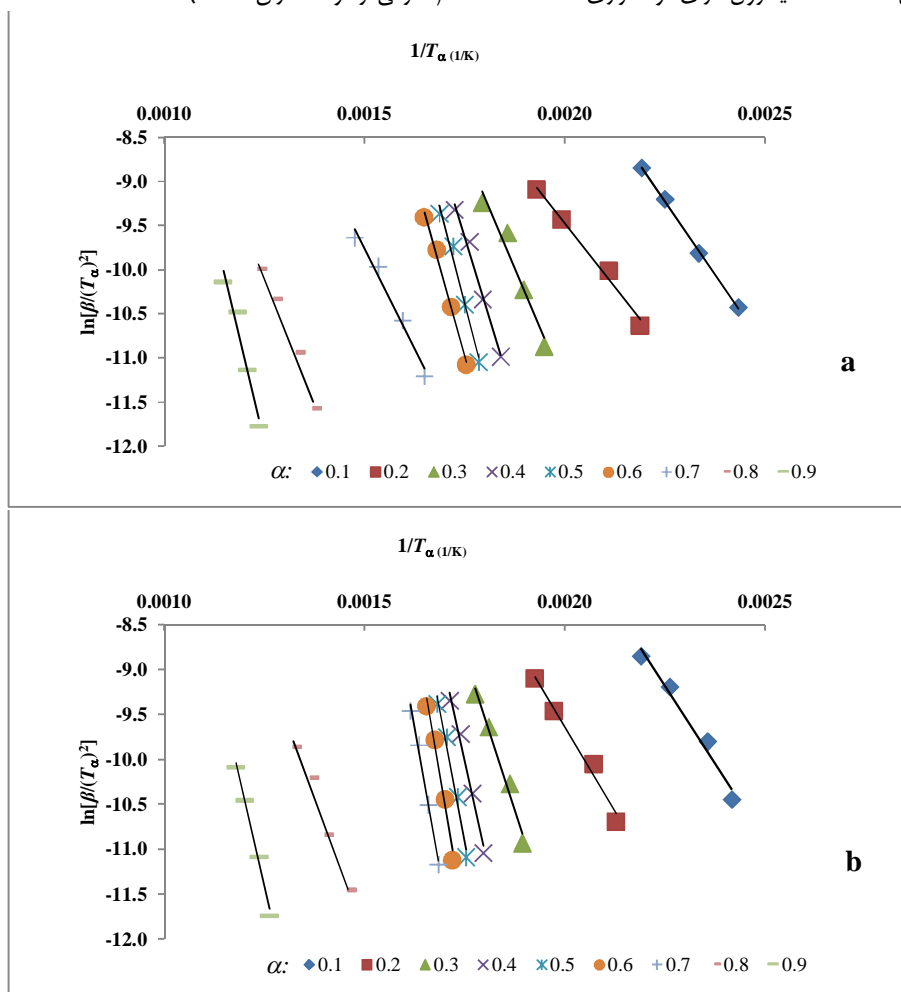
شکل 2- تعیین انرژی فعال‌سازی با استفاده از روش FWO در نسبت‌های تبدیل مختلف (α) برای بیوپلاستیک آمیخته (a) و بیوپلاستیک شاهد (b)

همانطور که در منحنی‌های شکل 1 ملاحظه می‌شود، کاهش جرم در دمای کمتر از 170°C در هر دو نوع بیوپلاستیک تقریباً ناچیز است. بین دماهای 220°C تا 350°C ، کاهش شدیدی در جرم نمونه‌ها رخ می‌دهد. پس از آن کاهش جرم با شیب ملایم‌تر و تدریجی تا دمای 750°C ادامه می‌یابد. کاهش جرم نمونه‌ها با افزایش حرارت می‌تواند به دلیل تبخیر مواد آلی فرار و به دنبال آن تجزیه پیوسته مواد زیستی ناشی از شکست بیشتر پیوندهای C-H و C-C باشد (Liang et al., 2014). بیش از 50% از جرم نمونه‌ها را ترکیبات نشاسته‌ای تشکیل می‌دهد. بر اساس مطالعات (Avella et al., 2002)، شروع تجزیه حرارتی نشاسته در دمای 290°C اتفاق می‌افتد. نتایج پژوهش‌های گذشته همچنین نشان می‌دهد که دمای تخریب حرارتی ژلاتین نیز بسته به منشأ و روش استخراج، بطور تقریبی 250°C می‌باشد (Chuaynukul et al., 2014). بنابراین دو جزء پلیمری استفاده شده در ساختار بیوپلاستیک‌ها دارای دمای تخریب حرارتی نزدیک به هم و

شاهد (b)

در دماهای پایین هم باعث تبخیر سطحی آن می‌شود. دمای جوش گلیسرول حدود 290°C است که پس از رسیدن دمای نمونه‌ها به این دما، تمام گلیسرول تبخیر می‌شود. بنابراین با افزایش حرارت تا دمای 170°C ، به دلیل تجزیه و خروج مواد فرار و تبخیر سطحی گلیسرول، درصد وزنی نمونه‌ها کاهش می‌یابد. با تجزیه و خروج این مواد، حفره‌هایی در داخل نمونه‌ها ایجاد می‌شود که چگالی آن‌ها را کاهش داده و با افزایش دما نمونه‌ها دچار کاهش شدید جرم می‌شوند (عمرانی فرد و همکاران، 1391).

در محدوده‌ای است که در نمودار TG افت شدید مشاهده شده که ناشی از همین موضوع است. در هنگام استفاده از ژلاتین به دلیل ایجاد پیوندهای عرضی بین ترکیبات پلی‌ساکارید در آرد سیب‌زمینی و پلی‌پپتید در ساختار ژلاتین (Pommet *et al.*, 2003)، تاحدودی باعث محبوس شدن ذرات پروتئین در ساختار پلاستیک شده و در نتیجه دمای تخریب حرارتی بیوپلاستیک‌های آمیخته در مقایسه با سیب‌زمینی تنها، تفاوت چشمگیری ندارد. جزء دیگر استفاده شده در ساختار هر دو نوع بیوپلاستیک، گلیسرول است. ماده گلیسرول دارای مواد فراری است که



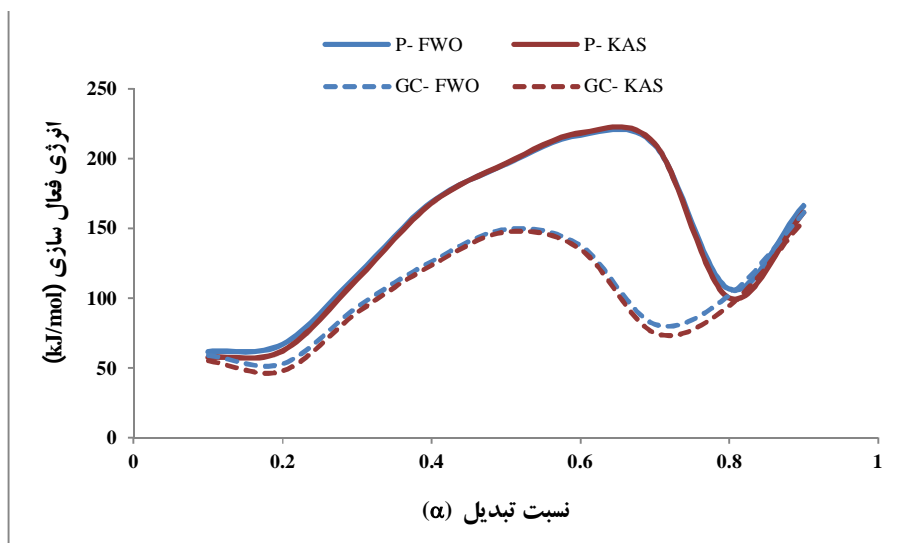
شکل 3- تعیین انرژی فعال‌سازی با استفاده از روش KAS در نسبت‌های تبدیل مختلف (α) برای بیوپلاستیک آمیخته (a) و بیوپلاستیک شاهد (b)

تبدیل کمتر از 0/1 و بیشتر از 0/9 در تحلیل‌ها آورده نشد، زیرا در این نواحی نرخ تخریب حرارتی بسیار ناچیز بوده و از طرفی دقت دستگاه برای تشخیص تغییر جرم آنقدر بالا نیست و باعث ایجاد خطا در نتایج خواهد شد. با استفاده از رابطه‌ی 10 و رسم نمودارهای $\ln\beta_i$ در مقابل $1/T_i$ (شکل 2-a و 2-b) و با استفاده از 4 نقطه به‌دست آمده، شیب نمودار با استفاده از رگرسیون نقاط به‌دست آمد و به دنبال آن انرژی

برای محاسبه انرژی فعال‌سازی با استفاده از مدل‌های معرفی شده، لازم است دمای مطلق متناظر با نسبت‌های تبدیل مختلف (0/1، 0/2، 0/3، 0/4، 0/5، 0/6، 0/7، 0/8 و 0/9) در نرخ‌های گرمادهی (β $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) چهارگانه با استفاده از نتایج شکل 1، استخراج شود. در این صورت در هر نسبت تبدیل، 4 نقطه خواهیم داشت که از نمودارهای مختلف گرمادهی استخراج می‌شود. در این مطالعه مقادیر نسبت‌های

انرژی فعال‌سازی در طول فرآیند مقدار ثابتی نبوده و تغییر می‌کند و مقدار آن برای هر دو نوع بیوپلاستیک در نسبت‌های تبدیل 0/3 تا 0/7 از سایر نسبت‌های تبدیل بیشتر بوده و این نتیجه در هر دو روش FWO و KAS قابل مشاهده است. در شکل 4 تغییر انرژی فعال‌سازی در نسبت‌های تبدیل مختلف، برای بیوپلاستیک‌های آمیخته (GC) و شاهد (P) بر اساس دو روش FWO و KAS نشان داده شده است.

فعال‌سازی بر اساس روش FWO محاسبه شد. همچنین با استفاده از رابطه 12 و رسم نمودارهای $\ln(\beta_i/T_i^2)$ در مقابل $1/T_i$ (شکل 3-a و 3-b) برای مقادیر مختلف α ، انرژی فعال‌سازی بر اساس روش KAS با استفاده از شیب رگرسیون نقاط در هر نسبت تبدیل محاسبه شد. با توجه به نتایج شکل‌های 2 و 3، می‌توان مشاهده کرد که شیب نمودار رگرسیون برای هر دو نوع بیوپلاستیک، در نسبت‌های تبدیل مختلف تغییر می‌کند و مقدار آن در نسبت‌های تبدیل 0/3 تا 0/7 در مقایسه با سایر نسبت‌های تبدیل بیشتر است که بنابراین می‌توان نتیجه گرفت



شکل 4- تغییر انرژی فعال‌سازی در نسبت‌های تبدیل مختلف (α) بر اساس دو روش FWO و KAS در بیوپلاستیک آمیخته (GC) و بیوپلاستیک شاهد (P)

به ترتیب تا 162 kJ/mol و 166/3 kJ/mol برای بیوپلاستیک‌های آمیخته و شاهد افزایش می‌یابد.

نتایج مشابه نیز در خصوص تغییر انرژی فعال‌سازی با تغییر نسبت تبدیل در مطالعات قبلی مشاهده شد (Kim, 2010; Liang *et al.*, 2014; Dhyani *et al.*, 2017; Yao *et al.*, 2008; Yuan *et al.*, 2017). به‌عنوان مثال مقادیر به‌دست آمده برای محدوده انرژی فعال‌سازی بر اساس دو روش FWO و KAS برای پلیمر PP به‌ترتیب 140 - 176 kJ/mol و 136 - 173 kJ/mol و برای پلیمر LDPE به ترتیب 165 - 242 kJ/mol و 162 - 242 kJ/mol گزارش شد (Das & Tiwari, 2017). تحقیقات گذشته همچنین نشان می‌دهد انرژی فعال‌سازی پلیمرهای زیستی در مقایسه با پلیمرهای نفتی، مقادیر کم‌تری می‌باشد. به‌عنوان مثال محدوده انرژی فعال‌سازی پلیمر PLA در محدوده 99 - 129 kJ/mol گزارش شد (Das & Tiwari, 2017) در حالیکه این مقادیر برای کاه سورگوم در محدوده 150 - 40 kJ/mol (Dhyani *et al.*, 2017) گزارش شده است.

بر اساس این نتایج، برای بیوپلاستیک‌های آمیخته، بین مقادیر نسبت تبدیل 0/1 تا 0/2، انرژی فعال‌سازی کاهش می‌یابد اما اختلاف انرژی فعال‌سازی در این دو نسبت تبدیل ناچیز است. اما در بیوپلاستیک‌های شاهد انرژی فعال‌سازی روند نسبتاً یکنواخت داشته و حدود 65 kJ/mol می‌باشد. با افزایش نسبت تبدیل تا 0/5، انرژی فعال‌سازی روندی افزایشی داشته و برای بیوپلاستیک‌های آمیخته از حدود 35/5 kJ/mol در نسبت تبدیل 0/2 تا 150 kJ/mol در نسبت تبدیل 0/5 افزایش می‌یابد. این روند افزایشی برای بیوپلاستیک‌های شاهد تا نسبت تبدیل 0/6 و مقدار 217 kJ/mol ادامه می‌یابد. بین نسبت‌های تبدیل 0/5 تا 0/7 در بیوپلاستیک‌های آمیخته، انرژی فعال‌سازی روندی کاهشی داشته و تا 81/6 kJ/mol کاهش می‌یابد. برای بیوپلاستیک‌های شاهد، این روند کاهشی بین نسبت‌های تبدیل 0/6 تا 0/8 بوده و انرژی فعال‌سازی در نسبت تبدیل 0/8 تا مقدار 106/5 kJ/mol کاهش می‌یابد. در محدوده نسبت تبدیل بالاتر از 0/8 انرژی فعال‌سازی در هر دو نوع بیوپلاستیک روندی افزایشی داشته و

در ساختار بیوپلاستیک‌ها، می‌توان برای اکستروژن و شکل‌دهی بیوپلاستیک‌ها از دماهای پایین‌تری استفاده کرد و در نتیجه انرژی مورد نیاز برای شکل‌دهی بیوپلاستیک‌ها را کاهش داد.

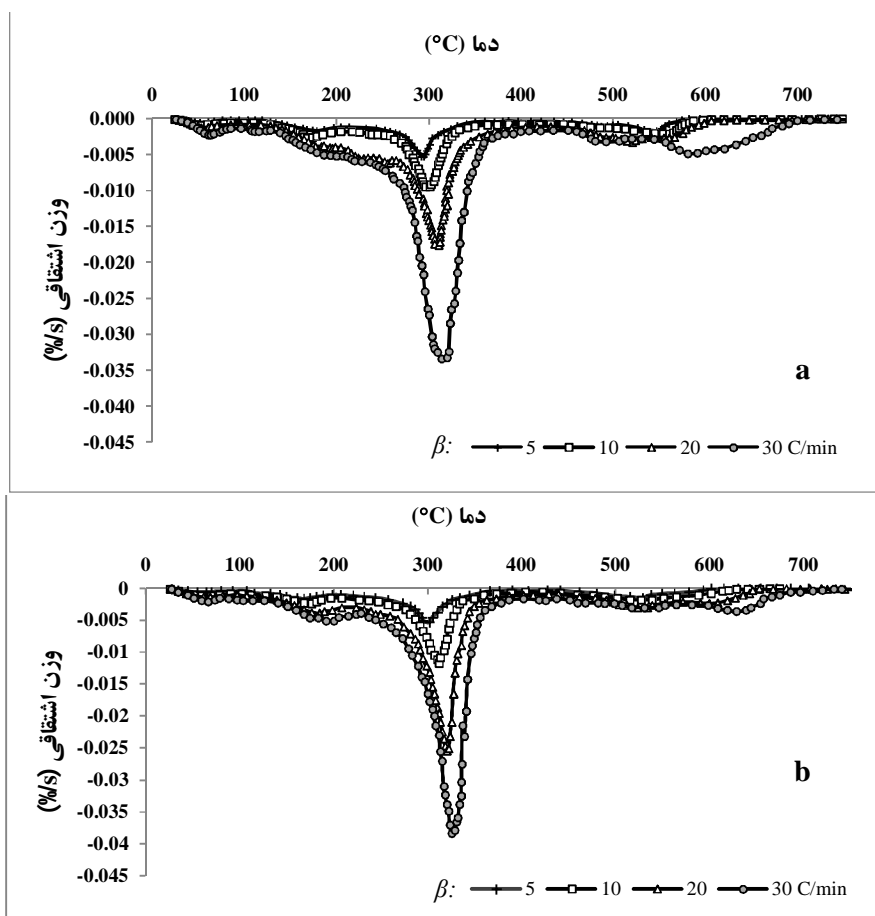
بر اساس نتایج منحنی‌های وزن‌سنجی حرارتی اشتقاقی (DTG)³ نشان داده شده در شکل 5، که مشتق منحنی‌های افت وزنی باقی‌مانده دو نوع بیوپلاستیک نسبت به زمان می‌باشد، با افزایش نرخ گرمادهی، دمایی که در آن سرعت از دست رفتن جرم بیشینه است (T_m) به سمت دماهای بزرگ‌تر پیش‌روی می‌کند. در هر دو نوع بیوپلاستیک، بیشینه از دست رفتن جرم برای نرخ‌های گرمادهی چهارگانه، بین دمای 250 تا 350°C اتفاق می‌افتد که می‌توان مشاهده کرد با افزایش نرخ گرمادهی، بیشینه منحنی نیز در هر دو نوع بیوپلاستیک افزایش می‌یابد که مقدار آن در بیوپلاستیک‌های شاهد در مقایسه با بیوپلاستیک‌های آمیخته در نرخ گرمادهی یکسان به‌طور میانگین 10 تا 12% بیشتر است. در این حالت با به‌دست آوردن دمای بیشینه که متناظر با دمای بالاترین مقدار از نمودارهای DTG می‌باشند (شکل 5-a و 5-b) و استفاده از انرژی فعال‌سازی محاسبه شده به روش KAS، می‌توان ثابت‌نمایی یا ضریب بسامد (A) را به کمک معادله 14 محاسبه کرد.

در شکل 6، تغییرات ضریب بسامد در نسبت‌های تبدیل مختلف برای بیوپلاستیک‌های آمیخته (GC) و شاهد (P) نشان داده شده است. مقادیر بدست آمده برای ضریب بسامد در محدوده نسبتاً وسیعی بین $1/27 \times 10^{14}$ 1/min تا $1/25 \times 10^4$ 1/min برای بیوپلاستیک‌های آمیخته و برای بیوپلاستیک‌های شاهد بین $1/94 \times 10^{14}$ 1/min تا $1/82 \times 10^4$ 1/min بسته به تغییرات نسبت تبدیل و نرخ‌های مختلف گرمادهی، تغییر می‌کند. این موضوع می‌تواند به دلیل ساختمان پیچیده ترکیبات موجود در ساختار بیوپلاستیک‌ها و پیچیدگی واکنشی باشد که در حین تخریب حرارتی اتفاق می‌افتد. بر اساس نتایج شکل 6، با افزایش نرخ گرمادهی، ضریب بسامد نیز در هر دو نوع بیوپلاستیک افزایش می‌یابد که این موضوع می‌تواند به دلیل افزایش شدت برخوردها با افزایش نرخ گرمادهی باشد (Dhyani *et al.*, 2017). تغییر ضریب بسامد با تغییر نسبت تبدیل و نرخ گرمادهی و همچنین محدوده وسیع تغییرات آن توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است (Dhyani *et al.*, 2017; Yuan *et al.*, 2017; Das & Tiwari, 2017). با مقایسه ضریب بسامد دو نوع بیوپلاستیک، نتایج نشان داد در تمام نسبت‌های تبدیل، با در نظر گرفتن نرخ‌های گرمادهی یکسان، ضریب بسامد بیوپلاستیک‌های شاهد بیشتر از بیوپلاستیک‌های آمیخته است. چنانچه مقدار ضریب بسامد کم باشد، نشان‌دهنده واکنش‌پذیری کم سیستم است که در بیشتر موارد می‌تواند نشان‌دهنده واکنش‌هایی باشد که تنها در سطح نمونه‌ها اتفاق می‌افتد. از طرف دیگر مقادیر بالای ضریب

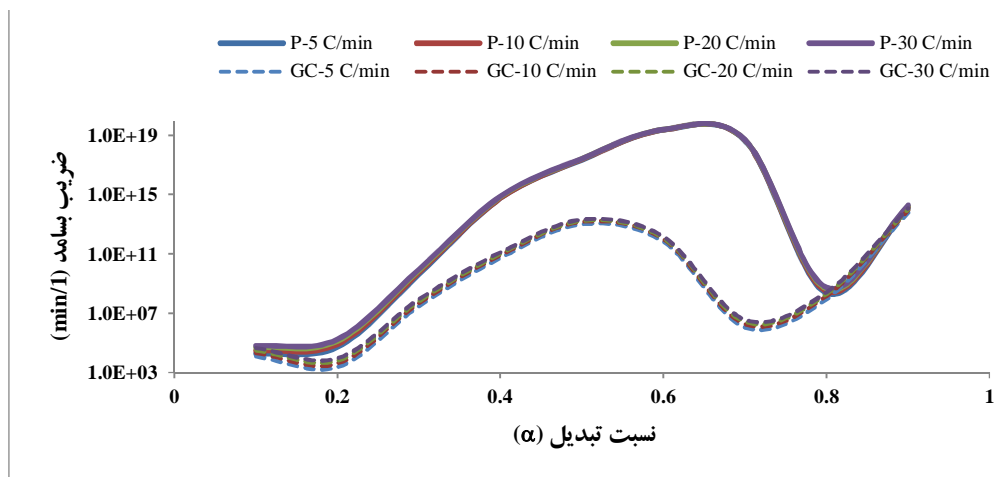
بر اساس مطالعات انجام گرفته، افزایشی بودن روند انرژی فعال‌سازی با افزایش نسبت تبدیل، نشان‌دهنده وقوع یک واکنش گرمازا است (Shlensky *et al.*, 1988). اصولاً واکنش‌های حاصل از تخریب حرارتی، واکنش‌هایی رقابتی بوده که نرخ واکنش بر اساس رقابت میان پیوندهای درون مولکولی و پیوند میان اجزای مواد در انجام واکنش، تغییر می‌کند (Shlensky *et al.*, 1988). اگر انرژی فعال‌سازی با پیشرفت واکنش کاهش یابد، نشان می‌دهد که واکنش گرماگیر و برگشت‌ناپذیر است (Yuan *et al.*, 2017). باید توجه داشت که پیشرفت واکنش (با افزایش نسبت تبدیل) اساساً وابسته به دمای واکنش است و بنابراین تغییرات انرژی فعال‌سازی می‌تواند به دلیل تغییرات گرمادهی یا گرماگیری تخریب مواد زیستی مختلف که اجزای مواد را می‌سازند باشد (Vyazovkin *et al.*, 2014).

به دلیل وجود روابط ریاضی مختلف و همچنین تخمین‌های متفاوتی که در هر کدام از روش‌های ایزوکانونرژنال استفاده شده وجود دارد، در مقادیر انرژی فعال‌سازی به‌دست آمده با روش‌های FWO و KAS نیز تفاوت اندکی مشاهده می‌شود. نتایج مشابهی نیز در مطالعات قبلی برای تخمین انرژی فعال‌سازی پلیمرهای مختلف با روش‌های FWO و KAS مشاهده شد (Yuan *et al.*, 2017; Das & Tiwari, 2017). مقایسه دو روش استفاده شده برای محاسبه انرژی فعال‌سازی نشان می‌دهد که در هر دو نوع بیوپلاستیک، روش FWO نسبت به روش KAS، مقادیر انرژی فعال‌سازی را به میزان بزرگتری محاسبه می‌کند اما اختلاف اعداد محاسبه شده در محدوده نسبت تبدیل 0/3 تا 0/7 ناچیز است. بیشینه انرژی فعال‌سازی محاسبه شده برای بیوپلاستیک‌های آمیخته (GC) به روش FWO در نسبت تبدیل 0/9 و برابر 162 kJ/mol و پس از آن در نسبت تبدیل 0/5 و برابر 150 kJ/mol مشاهده شد، در حالی که بیشینه انرژی فعال‌سازی بیوپلاستیک‌های شاهد (P) در نسبت تبدیل 0/6 و برابر 217 kJ/mol مشاهده شد. با مقایسه انرژی‌های فعال‌سازی دو نوع بیوپلاستیک در نسبت‌های تبدیل مشخص، می‌توان مشاهده کرد که انرژی فعال‌سازی بیوپلاستیک‌های آمیخته (GC) به‌خصوص در محدوده نسبت تبدیل 0/3 تا 0/7 که بالاترین کاهش جرم اتفاق می‌افتد، از انرژی فعال‌سازی بیوپلاستیک‌های شاهد (P) کمتر است. علت این امر به دلیل وجود ژلاتین در ساختار بیوپلاستیک‌های آمیخته است. هرچند دمای تخریب حرارتی ژلاتین 250°C~ می‌باشد، اما دمای دنا توره شدن ژلاتین حدود 40°C گزارش شده است (Chuaynukul *et al.*, 2014) که به دلیل گسست ساختار ژلاتینی با افزایش حرارت، انرژی فعال‌سازی را کاهش می‌دهد. این نتیجه به‌خصوص در نسبت‌های تبدیل پایین که بسیاری از فرآیندهای شکل‌دهی و آماده‌سازی مواد برای قالب‌گیری بیوپلاستیک‌ها را در بر می‌گیرد، نشان می‌دهد که با استفاده از ژلاتین

بسامد نشان‌دهنده واکنش‌پذیری بالای سیستم می‌باشد (Yuan *et al.*, 2017).



شکل 5- منحنی‌های DTG برای بیوپلاستیک آمیخته (a) و بیوپلاستیک شاهد (b) برای نرخ‌های مختلف گرمادهی (β)



شکل 6- تغییر ضریب بسامد در نسبت‌های تبدیل مختلف برای بیوپلاستیک‌های آمیخته (GC) و شاهد (P) در نرخ‌های گرمادهی مختلف

نتیجه‌گیری

پایین‌تری استفاده کرد و در نتیجه انرژی مورد نیاز برای شکل‌دهی بیوپلاستیک‌ها را کاهش داد. با محاسبه‌ی ثابت سینتیکی k (معادله 3)، به کمک مقادیر انرژی فعال‌سازی و ضریب بسامد به‌دست آمده در این پژوهش، نتایج نشان داد این پارامتر وابسته به نرخ گرمادهی و نسبت تبدیل است. به‌طوریکه با افزایش نرخ گرمادهی و نسبت تبدیل در هر دو نوع بیوپلاستیک، ثابت سینتیکی k افزایش می‌یابد. با مقایسه مقادیر به‌دست آمده برای بیوپلاستیک‌های آمیخته و شاهد مشاهده شد که در نرخ گرمادهی $5^\circ\text{C}/\text{min}$ ، از نسبت تبدیل $0/1$ تا قبل از نسبت تبدیل $0/8$ ، ثابت سینتیکی بیوپلاستیک شاهد ($0/001$ تا $1/384$ $1/\text{min}$) بیش‌تر از بیوپلاستیک آمیخته ($0/001$ تا $0/382$ $1/\text{min}$) است. اما در نسبت‌های تبدیل بالاتر از $0/8$ ، ثابت سینتیکی بیوپلاستیک آمیخته (15 تا 5480 $1/\text{min}$) بیش‌تر از شاهد (5 تا 3040 $1/\text{min}$) است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب طرح پژوهشی شماره 3 با شماره 39891 تشکر و قدردانی می‌گردد.

در این پژوهش سینتیک تخریب حرارتی دینامیکی بیوپلاستیک‌های حاصل از آمیخته ژلاتین پای مرغ و آرد کامل سیب‌زمینی (GC) و بیوپلاستیک شاهد (P) که آرد کامل سیب‌زمینی به تنهایی استفاده شده بود مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. در این پژوهش دو مدل فلین-وال - اوزاوا (FWO) و کیسینجر - آکاهیرا - سانوز (KAS) مورد توجه قرار گرفت که با استفاده از هر کدام از این مدل‌ها، ثابت‌های سینتیک تخریب حرارتی برای نمونه‌های بیوپلاستیک محاسبه شد. با مقایسه انرژی‌های فعال‌سازی دو نوع بیوپلاستیک در نسبت‌های تبدیل مشخص، مشاهده شد که انرژی فعال‌سازی بیوپلاستیک‌های آمیخته (GC) به خصوص در محدوده نسبت تبدیل $0/3$ تا $0/7$ که بالاترین کاهش جرم اتفاق می‌افتد، از انرژی فعال‌سازی بیوپلاستیک‌های شاهد (P) کمتر است. این نتیجه در نسبت‌های تبدیل پایین هم که بسیاری از فرآیندهای شکل‌دهی و آماده‌سازی مواد برای قالب‌گیری بیوپلاستیک‌ها را در بر می‌گیرد صادق است و نشان می‌دهد که با استفاده از ژلاتین در ساختار بیوپلاستیک‌ها، می‌توان برای اکستروژن و شکل‌دهی بیوپلاستیک‌ها از دماهای

منابع

- اولیایی، س.ا.، مؤیدی، ع.ا. و قنبرزاده، ب.، 1396، اثر مونت‌موریلونیت (MMT) بر مشخصه‌های ساختاری، نوری و حرارتی فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی نشاسته سیب‌زمینی تولید شده در ایران. فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، 15، 89-105.
- داورپناه، ز.، کرامت، ج.، همدی، ن.، شاهدهی، م. و بهزاد، ط.، 1393، خواص فیلم میکروکامپوزیت ژئین حاوی مونت‌موریلونیت اصلاح شده. فصلنامه علوم و فناوری‌های نوین غذایی، 5، 49-56.
- عمرانی فرد، ح.، غضنفری مقدم، ا.، شمسی، م. و عطائی، ا.، 1391، تعیین برخی خواص مکانیکی و بررسی سینتیکی تخریب گرمایی زیست‌پلاستیک‌های تهیه شده از سلولوز کاه و آرد گندم. مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، 25، 65-74.
- Akahira, T. & Sunose, T., 1971, Method of determining activation deterioration constant of electrical insulating materials. *J. Res. Rep. Chiba. Inst. Technol.*, 16, 22-31.
- Avella, M., Errico, M.E., Rimedio, R. & Sadocco, P., 2002, Preparation of biodegradable polyesters/high-amylose-starch composites by reactive blending and their characterization. *J. Appl. Polym. Sci.*, 83, 1432-1442.
- Chuaynukul, K., Prodpran, T. & Benjakul, S., 2014, Preparation, thermal properties and characteristics of gelatin molding compound resin. *J. Research Journal of Chemical and Environmental Sciences*, 2, 1-9.
- Chuaynukul, K., Prodpran, T. & Benjakul, S., 2015, Properties of thermo-compression molded bovine and fish gelatin films as influenced by resin preparation condition. *J. International Food Research*, 22, 1095-1102.
- Das, P. & Tiwari, P., 2017, Thermal degradation kinetics of plastics and model selection. *J. Thermochimica Acta*, 654, 191-202.
- Das, S., Routray, M. & Nayak, P., 2008, Spectral, thermal, and mechanical properties of furfural and formaldehyde cross-linked soy protein concentrate: a comparative study. *J. Polym. Plast Technol. Eng.*, 47, 576-582.
- Dhyani, V., Kumar, J. & Bhaskar, T., 2017, Thermal decomposition kinetics of sorghum straw via thermogravimetric analysis. *J. Bioresource Technology*, 245, 1122-1129.
- Doyle, C.D., 1962, Estimating isothermal life from thermogravimetric data. *J. Appl. Polym. Sci.*, 6, 639-642.
- Flynn, J.H., 1997, The temperature integral-its use and abuse. *J. Thermochim. Acta.*, 300, 83-92.
- Hashim, P., MohdRidzwan, M.S. & Bakar, J., 2014, Isolation and characterization of collagen from chicken feet. *J. International Scholarly and Scientific Research and Innovation*, 8, 250-254.
- Irwandi, J., Faridayanti, S., Mohamer, E.S.M., Hamzah, M.S., Torla, H.H. & Man, Y.B.C., 2009, Extraction and characterization of gelatin from different marine fish species in Malaysia. *J. International Food Research*, 16, 381-389.

- Jerez, A., Partal, P., Martinez, I., Gallegos, C. & Guerrero, A., 2007, Protein-based bioplastics: Effect of thermo-mechanical processing. *J. Rheologica. Acta.*, 46, 711–720.
- Kim, S.H., 2010, Investigation of thermodynamic parameters in the thermal decomposition of plastic waste. *J. Waste Lube Oil Comp*, 44, 5313–5317.
- Liang, Y., Cheng, B., Si, Y., Cao, D., Jiang, H., Han, G. & Liu, X., 2014, Thermal decomposition kinetics and characteristics of *Spartina alterniflora* via thermogravimetric analysis. *J. Renewable Energy*, 68, 111–117.
- Murray, P. & White, J., 1955, Kinetics of the thermal dehydration of clays. Part IV. Interpretation of the differential thermal analysis of the clay minerals. *J. Trans. Br. Ceram. Soc.*, 54, 204–238.
- Ozawa, T., 1965, A new method of analyzing thermogravimetric data. *J. Bull. Chem. Soc. Jpn.* 38, 1881–1886.
- Pommet, M., Redl, A., Morel, M.H., Domenek, S. & Guilbert, S., 2003, Thermoplastic processing of protein-based bioplastics: Chemical engineering aspects of mixing, extrusion and hot molding. *J. Macromolecular Symposia*, 197, 207–218.
- Shlensky, O.F., Vaynsteyn, E.F. & Matyukhin, A.A., 1988, Dynamic thermal decomposition of linear polymers and its study by thermoanalytical methods. *J. Therm. Anal.*, 34, 645–655.
- Sun, S., Song, Y. & Zheng, Q., 2007, Morphologies and properties of thermo-moulded biodegradable plastics based on glycerol-plasticized wheat gluten. *J. Food Hydrocol.*, 21, 1005–10013.
- Swain, S., Rao, K. & Nayak, P., 2005, Biodegradable polymers. Part II. Thermal degradation of biodegradable plastics cross-linked from formaldehyde-soy protein concentrate. *J. Therm. Anal. Calorim.* 79, 33–38.
- Uttaravalli, A.N. & Dinda, S., 2017, Kinetics of thermal decomposition of ketonic resins. *J. Materials Today Communications*, 12, 88–94.
- Vyazovkin, S., Burnham, A.K., Criado, J.M., Pérez-Maqueda, L.A., Popescu, C. & Sbirrazzuoli, N., 2011, ICTAC Kinetics Committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data. *J. Thermochim. Acta.*, 520, 1–19.
- Vyazovkin, S., Chrissafis, K., Di Lorenzo, M.L., Koga, N., Pijolat, M., Roduit, B., Sbirrazzuoli, N. & Suñol, J.J., 2014, ICTAC Kinetics Committee recommendations for collecting experimental thermal analysis data for kinetic computations. *J. Thermochim. Acta.*, 590, 1–23.
- Widyasari, R. & Hashim, S., 2014, Extraction and characterization of gelatin from chicken feet by acid and ultrasound assisted extraction. *J. Food and Applied Bioscience*, 2, 85–97.
- Yao, F., Wu, Q., Lei, Y., Guo, W. & Xu, Y., 2008, Thermal decomposition kinetics of natural fibers: Activation energy with dynamic thermogravimetric analysis. *J. Polymer Degradation and Stability*, 93, 90–98.
- Yuan, X., He, T., Cao, H. & Yuan, Q., 2017, Cattle manure pyrolysis: kinetic and thermodynamic analysis with isoconversional methods. *J. Renewable Energy*, 107, 489–496.

Studying the Dynamic Thermal Decomposition Kinetics of Whole Potato Flour and Chicken Feet Gelatin Blending based Bioplastic

H. Omrani Fard¹, M. H. Abbaspour- Fard^{2*}, M. Khojastehpour³, A. Dashti⁴

Received: 2018.07.31

Accepted: 2019.01.28

Introduction: One of the new methods for improving the mechanical properties of bioplastics is the production of blending based bioplastics. Recent studies show that proteins, in combination with starch, form a strong network of hydrogen bonds and intermolecular interactions that resulted stable 3-D materials. The big problem in the commercialization of blending based bioplastics is the lack of industrial machinery for the continuous production of bioplastics with the direct use of biopolymers. Industrial production of bioplastics is accompanied by increasing heat along with applying the pressure. It is necessary to know the kinetics of thermal degradation of bioplastics to study thermal behavior at different temperatures in order to design bioplastics processing devices and molding machines, software modeling of processes, mass and energy equilibrium, and optimizing energy consumption in the production process along with improving the thermal properties of the bioplastics.

Materials and methods: In this study, the dynamics thermal decomposition of bioplastics prepared from a mixture of potato whole flour-gelatin and glycerol with a control sample consisting of potato whole flour and glycerol was investigated and compared. The gelatin was extracted from chicken feet using chemical methods. In this research, two isoconversional models including Flynn-Wall-Ozawa (FWO) and Kissinger-Akahira-Sunose (KAS) models were considered. Using each of these models, thermal decomposition kinetic parameters were calculated for bioplastic samples.

Result and discussion: The results showed that the maximum activation energy of the mixed bioplastics determined 162 and 150 kJ/mol by FWO method at the conversion ratio of 0.9 and 0.5 respectively, while it was 217 kJ/mol at the ratio of 0.6 for control bioplastics. The amounts of kinetic parameters calculated in this study, were able to determine the thermal behavior at different temperatures and the thermal decomposition process. Also, it can help to redesign and optimize the methods of molding and shaping of potato-gelatin based bioplastics by the use of existing machinery in the industry.

Keywords: Activation energy, bioplastic, gelatin, potato, thermal decomposition kinetics.

1, 2 and 3. Ph.D. Student, Professor and Associate Professor, Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

4. Associate Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

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

شناسایی فلور لاکتیکی هویج تخمیری با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی و بررسی روابط خویشاوندی به کمک آنالیز فیلوژنتیکی

محمد ابراهیم گوهرجو¹ - محمدرضا عدالتیان دوم^{2*} - فخری شهیدی³ - فریده طباطبایی یزدی³ - محمد جواد وریدی³

تاریخ دریافت: 1397/01/22

تاریخ پذیرش: 1397/10/09

چکیده

هویج تخمیری نوعی شوری تهیه شده از هویج و نمک است که سرشار از ویتامین‌ها می‌باشد. هدف از این پژوهش، بررسی تنوع زیستی باکتری‌های اسید لاکتیک فرآورده طی دوره نگهداری و رسیدگی بود. بدین منظور پس از تولید هویج تخمیری، تنوع باکتری‌های اسید لاکتیک موجود در فرآورده در شش تناوب زمانی بررسی گردید. 144 جدایه گرم مثبت و کاتالاز منفی، جداسازی شده که از میان آنها، 48 جدایه گرم مثبت و کاتالاز منفی انتخاب شدند. آزمون‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل رشد در دماهای 10 و 45 درجه سانتی گراد، در 6/5 درصد نمک طعام، در pH= 4/4 و pH= 9/6، و تولید گاز دی‌اکسیدکربن از قند گلوکز انجام پذیرفت. در مرحله بعد، شناسایی بر اساس پروفایل تخمیر کربوهیدرات (ده قند)، منجر به شناسایی جنس‌های پدیوکوکوس (2 مورد)، لویکونوستوک (10 مورد)، لاکتوباسیلوس (33 مورد) و انتروکوکوس (2 مورد) و یک مورد هم شناسایی نگردید و در مجموع 19 گونه مختلف گردید. در پایان، 26 جدایه از مجموع 48 جدایه توسط تعیین توالی ژن 16S rDNA تا سطح جنس و گونه شناسایی شدند. نتایج توالی‌یابی منجر به شناسایی گونه‌های ذیل گردید: *Lactobacillus plantarum* (33/34%)، *Leuconostoc mesenteroides* (14/85%)، *Lactobacillus brevis* (29/63%)، *Lactobacillus casei* (3/7%)، *Lactobacillus paracasei* (3/7%) و سه ایزوله تا مرحله جنس به‌عنوان لاکتوباسیلوس شناسایی شدند. لویکونوستوک منترویدس در مراحل اولیه تخمیر با توجه به نتایج توالی‌یابی و مولکولی غالب بوده که به تدریج در مراحل پایانی توسط لاکتوباسیلوس برویس جایگزین گردید. آنالیز فیلوژنتیک وجود سه خوشه را نشان داد، به‌طوری‌که خوشه اول شامل دو جنس لوکونوستوک و لاکتوباسیلوس، خوشه دوم شامل لاکتوباسیلوس برویس و خوشه سوم شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم بوده است.

واژه‌های کلیدی: تنوع زیستی، باکتری‌های اسید لاکتیک، هویج، تخمیر، فیلوژنی.

مقدمه

روش‌های مولکولی در زمینه شناسایی میکروارگانیسم‌ها امکان درک بهتر بوم‌شناسی تخمیرهای غذایی را فراهم آورده است (2008، *et al.*, Mohania).

هویج حاوی ویتامین‌ها، نمک‌های معدنی و فیبرهای رژیمی، سرشار از فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها است که برای جلوگیری از بسیاری بیماری‌ها مفید می‌باشند (Lampe, 1999). شاید بتوان با تولید نوعی از هویج تخمیری مصرف این محصول با ارزش را به‌عنوان چاشنی غذایی افزایش داد.

باکتری‌های بومی آغازگر هر کشور جزء ذخایر ژنتیکی آن محسوب می‌شوند که نقش عمده‌ای در تولید و ایجاد ویژگی‌های ارگانولپتیکی فرآورده‌های تخمیری دارند. هدف از انجام این مطالعه، شناسایی فلور لاکتیکی هویج تخمیری، به‌منظور معرفی سویه‌های بومی این فرآورده بوده، که می‌توانند در سطح تجاری (صنعت) استفاده شوند و ممکن

تخمیر از زمان‌های قدیم به‌عنوان یک روش آسان برای نگهداری و جلوگیری از فساد میوه‌ها و سبزی‌ها و یا بهبود خواص تغذیه‌ای و ویژگی‌های حسی مطلوب مورد استفاده قرار گرفته است. نگهداری سنتی سبزی‌ها و میوه‌ها به‌وسیله فرایند تخمیر علاوه بر افزایش زمان ماندگاری، فواید بسیاری دارد. تکثیر باکتری‌های اسید لاکتیک در سبزی‌های تخمیر شده علاوه برافزایش قابلیت هضم این سبزی‌ها، میزان ویتامین‌ها را نیز افزایش داده، مواد ضد میکروبی تولید می‌نماید و باعث تقویت رشد فلور میکروبی مفید در سراسر روده می‌شود (Grosu- tudor and Zamfir, 2011).

دانش موجود در خصوص میکروارگانیسم‌های دخیل در تخمیر بسیاری از سبزی‌ها هنوز به داده‌های حاصل از آزمایش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژی کلاسیک وابسته است. در حال حاضر به‌کارگیری

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

مراحل جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌ها

نمونه‌برداری

در هر یک از تناوب‌های زمانی پس از تخمیر از 12 ظرف نمونه‌برداری گردید، بدین صورت که تحت شرایط استریل درب ظروف باز و 10 گرم از هر نمونه توزین و 90 سی‌سی محلول سرم فیزیولوژی استریل به آن اضافه شد (برای رقت‌سازی)، این مخلوط داخل کیسه پلاستیکی استریل مخصوص دستگاه استومکر به مدت 5 دقیقه توسط دستگاه استومکر با دور 260 rpm همگن گردید، محلول حاصل در شرایط استریل به ارلن‌های استریل جهت تهیه رقت‌های بعدی منتقل گردید (تا رقت 10^{-7})، 0/1 میلی‌لیتر از هر رقت در پتری دیش‌های یکبار مصرف استریل به قطر 8 سانتی‌متر حاوی محیط کشت اختصاصی جهت جداسازی باکتری‌های اسید لاکتیک یعنی MRS Agar (در دو تکرار) کشت سطحی به عمل آمد. یک سری از پلیت‌ها در دماهای (30 ± 1) و (45 ± 1) با استفاده از جار بی‌هوای و گاز پک و سری دیگر در شرایط هوای گرمخانه‌گذاری شدند (Saeedi *et al.*, 2015): (Tamang *et al.*, 2005).

جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌ها بر روی محیط کشت

MRS Agar

پس از گذشت 24 تا 72 ساعت پرگنه‌های تشکیل شده در محیط‌های مختلف از نظر مورفولوژیکی، رنگ‌آمیزی گرم و تست کاتالاز مورد بررسی قرار گرفتند، سپس پرگنه‌هایی که با انجام آزمایش‌های اولیه به نظر می‌رسید جزء باکتری‌های اسید لاکتیک باشند (یعنی گرم مثبت و کاتالاز منفی بودند) انتخاب و از آنها در محیط کشت اختصاصی مذکور جهت خالص‌سازی بیشتر کشت خطی به عمل آمد. به این ترتیب کشت باکتری‌ها خالص شده و پرگنه‌های تک از هر جدایه بدست آمد.

شناسایی اولیه باکتری‌های اسید لاکتیک

پیش از شروع آزمایش‌ها به منظور فعال‌سازی، هر سویه در 10-5 میلی‌لیتر محیط کشت MRS Broth، به مدت 24 ساعت و در دمای 30 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. به منظور شناسایی ویژگی‌های فنوتیپی رنگ‌آمیزی گرم و تست کاتالاز استفاده شد. این دو آزمون به منظور جداسازی باکتری‌های گرم مثبت و کاتالاز منفی انجام پذیرفت.

آزمایش کاتالاز

لوپ کوچکی از کشت تازه هر یک از جدایه‌ها بر روی لام قرار گرفت و سپس یک قطره از آب اکسیژنه 3 درصد به آن اضافه گردید و واکنش کاتالاز و تشکیل حباب بررسی شد (Tamang *et al.*, 2007).

است برخی از آنها به‌عنوان پروبیوتیک مطرح باشند و در مرحله بعد مقایسه نتایج حاصل از روش‌های بیوشیمیایی با روش‌های مولکولی مبتنی بر کشت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تولید فرآورده

هوای پوست‌گیری شده از فروشگاه بامدادان در مشهد تهیه گردید و با دستگاه خردکن موجود در پایلوت پلنت صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد، رنده شد. در شرایط بهداشتی هوای رنده شده در ظروف 800 گرمی پلاستیکی مناسب با ایجاد شرایط بی‌هوای بسته‌بندی گردیدند. به این صورت که ظروف پس از پر شدن توسط دسته‌هاون استریل جهت خارج شدن هوا فشرده گردید. تعداد 72 عدد نمونه تهیه شد. پس از 12 ساعت درب ظروف محکم بسته شده از هر سری نمونه دو عدد برای انجام آزمایش‌های روز اول کنار گذاشته شد و بقیه نمونه‌ها در دمای 25 تا 27 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

شمارش تعداد کل باکتری‌های اسید لاکتیک هوای و

میکروآنروفلیک

شمارش کلی باکتری‌های اسید لاکتیک بر اساس استاندارد ملی 5484 که با استانداردهای بین‌المللی مطابقت دارد انجام پذیرفت. به منظور ایجاد شرایط میکروآنروفلیک برای شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک میکروآنروفلیک از گاز پک نوع A و جار بی‌هوای استفاده شد (Şengül, 2006). در این مرحله پلیت‌هایی که دارای 30 تا 300 کلنی بودند، انتخاب و جهت شمارش بر حسب CFU/g محاسبه گردید. سپس از داده‌ها به کمک معادله زیر نسبت به محاسبه شمارش کلی باکتری‌های اسید لاکتیک استفاده شد (باورمنش و همکاران، 1386).

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2)d} \quad (1)$$

$\sum C$: مجموع کلنی‌ها در دو رقت متوالی، N1: تعداد پتری‌ها (ظرف کشت) اولین رقت، N2: تعداد پتری‌ها (ظرف کشت) دومین رقت، d: ضریب رقت در اولین رقت.

جداسازی باکتری‌های اسید لاکتیک

با توجه به اینکه تخمیرهای گیاهی بسته به شرایط حدود 7 تا 28 روز زمان لازم دارند (سعیدی، 1392) دوره تخمیر هوای تخمیری نیز 32 روز در نظر گرفته شد. جداسازی باکتری‌های اسید لاکتیک از هوای تخمیری تحت شرایط کاملاً بهداشتی در تناوب‌های زمانی (صفر، 4، 8، 16، 24 و 32) روز انجام پذیرفت.

میلی‌لیتر از محلول قندی مورد نظر با عبور از فیلتر سرنگی 0/45 به لوله حاوی 4/5 میلی‌لیتر محیط کشت پایه افزوده شد. رنگ محیط کشت قرمز بود، ظاهر شدن رنگ زرد پس از 72 ساعت از شروع گرمخانه‌گذاری نشان‌دهنده تخمیر قند بود (Fitzsimons *et al.*, 1999).

شناسایی با استفاده از روش‌های مولکولی استخراج DNA جدایه‌ها

از 49 جدایه مختلف که بر اساس آزمایش‌های بیوشیمیایی و تخمیر قند، شناسایی و گروه‌بندی شدند، 27 جدایه بر اساس مشابهت در خصوصیات بیوشیمیایی برای شناسایی مولکولی انتخاب گردیدند. جهت استخراج DNA جدایه‌ها از کیت استخراج High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche، آلمان) استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون اولیه هر جدایه در شروع کار، هر یک از جدایه‌ها به 5 میلی‌لیتر محیط کشت MRS Broth تلقیح و پس از 24 ساعت گرمخانه‌گذاری در 30 درجه سانتی‌گراد، از 500 میکرولیتر از این سوسپانسیون برای ادامه کار مورد استفاده قرار گرفت. همه مراحل مطابق دستورالعمل کیت انجام پذیرفت. در پایان برای هر جدایه محلول 200 میکرولیتری حاوی DNA جدایه به دست آمد، که برای انجام مراحل بعد در فریزر 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

انجام عملیات PCR و تکثیر ناحیه ژن 16S rRNA

هر مخلوط واکنش 50 میکرولیتر حجم داشت که اجزای آن شامل مستر میکس 25 میکرولیتر، DNA الگو 2 میکرولیتر، پرایمر پیش‌رو و معکوس هر کدام یک میکرولیتر و آب مقطر 21 میکرولیتر بود. برای تعیین توالی ژن 16S rRNA در جدایه‌هایی که DNA آنها استخراج شده بود از پرایمرهای یونیورسال پیش‌رو 27F (AGAGTTTGATYMTGGCTCAG) و معکوس 1492R (GGTTACCTTGTTACGACTT) استفاده گردید. به طوری که محصول به دست آمده 1500 جفت باز طول داشت (Taheri *et al.*, 2009).

پرایمرهای مورد استفاده طبق دستور العمل شرکت سازنده (فرمتناز) با آب مقطر دو بار تقطیر استریل تا رقت 25 پیکومول بر میکرولیتر رقیق و در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (سعیدی، 1392).

مخلوط اصلی واکنش PCR پس از تهیه در میکروتیوب‌های 200 میکرولیتری ریخته شد و واکنش PCR به صورت مرحله اول فعال‌سازی¹ یا دناتوراسیون اولیه (95°C به مدت 5 دقیقه)، مرحله دوم (مرحله دناتوراسیون یا واسرشته‌سازی² 94°C به مدت 30 ثانیه)، مرحله

آزمایش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به منظور شناسایی کلنی‌های خالص شده

شناسایی فنوتیپی جدایه‌ها در سطح جنس

رشد در دمای 15 و 45 درجه سانتی‌گراد طی 7 روز: در این مرحله جدایه‌ها در محیط کشت MRS Broth به مدت 48 ساعت کشت و سپس یک لوپ از این محیط به لوله‌های حاوی محیط MRS Broth منتقل و در دماهای مورد نظر گرمخانه‌گذاری گردید. ایجاد کدورت در محیط نشان‌دهنده رشد باکتری در شرایط مذکور می‌باشد (Ebing and Rutgers, 2006).

رشد در غلظت نمک 6/5% نمک طعام: جهت بررسی رشد در غلظت مورد نظر نمک، جدایه‌ها را در محیط کشت MRS Broth و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت گرمخانه‌گذاری و سپس یک لوپ از این محیط به لوله‌های حاوی MRS Broth با غلظت مورد نظر نمک طعام منتقل و به مدت 7 روز در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. ایجاد کدورت در محیط نشان‌دهنده رشد باکتری در شرایط مذکور می‌باشد (Ebing and Rutgers, 2006).

رشد در pH= 4/4 و pH= 9/6: رشد با روش مذکور در دو pH مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تنظیم pH از اسید کلریدریک و سود یک نرمال استفاده شد. قابل ذکر است که تنظیم pH محیط پس از اتوکلاو کردن آن صورت پذیرفت (Duan *et al.*, 2008).

بررسی توانایی تولید گاز CO₂ از گلوکز: برای انجام این آزمون MRS برات و لوله‌های دورهام وارونه استفاده شد. 50 μl از کشت‌های 24 ساعته به 8 میلی‌لیتر محیط کشت آزمون منتقل شد. بعد از گرمخانه‌گذاری برای 5 روز گاز تجمع‌یافته در لوله‌های دورهام به عنوان شاهد تولید گاز از گلوکز در نظر گرفته شد (Nikita and Hemangi, 2012). جهت گروه‌بندی جدایه‌های مشابه رشد در دمای 10 و 45 درجه سانتی‌گراد (به مدت 3 تا 5 روز)، رشد در غلظت 6/5 درصد نمک طعام و رشد در pHهای 4/4 و 9/6 در محیط کشت MRS Broth و تولید یا عدم تولید گاز CO₂ توسط لوله دورهام مورد بررسی قرار گرفت (Tamang *et al.*, 2005).

تخمیر کربوهیدرات‌ها

برای این منظور لوله‌های حاوی محیط کشت Phenol Red Broth Base حاوی یک درصد قند مورد نظر (گلوکز، فروکتوز، گالاکتوز، مانیتول، سوربیتول، ملیبیوز، مالتوز، ساکارز، لاکتوز و رافینوز) تهیه گردید. بدین صورت که ابتدا محلول 10 درصد قند تهیه و 0/5

گردید. پس از دریافت نتایج توالی‌یابی برای 27 ایزوله باکتری اسید لاکتیک، نتایج، ابتدا در NCBI Blast شد و سویه‌هایی که درصد مشابهت آنها بالای 97% بود، به‌عنوان همانگونه شناسایی گردید. در ضمن آن دسته از سویه‌ها که در Blast اول، درصد مشابهت پایین‌تر از 97% داشتند، آن سویه‌ها جهت توالی‌یابی مجدد به شرکت مربوطه ارسال گردید و نتایج توالی‌یابی مجدد آنها دریافت و ثبت شد. در مرحله بعد برای رسم درخت فیلوژنتیک، ابتدا سکانس‌ها (فایل txt آنها) در داخل نرم‌افزاری به نام Clustal Omega، به فرمت Fasta، کپی گردید، سپس درخت فیلوژنتیک در داخل این نرم‌افزار به حالت Cladogram، رسم شد. در مرحله بعد فایل Multiple Alignment (هم‌ردیفی چندتایی) روی کامپیوتر ذخیره، سپس این فایل با نرم‌افزار Clustal X باز و درخت فیلوژنتیک را با این نرم‌افزار (Boot strap، 1000) رسم گردید. در نهایت درخت فیلوژنتیک رسم شده با نرم‌افزار Fig Tree Version 4، باز و ویرایش شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

پس از انجام رنگ‌آمیزی گرم و بررسی مورفولوژی جدایه‌ها و نیز انجام تست کاتالاز، 144 جدایه از مراحل مختلف تخمیر هویج تخمیری که گرم مثبت و کاتالاز منفی بوده و ویژگی‌های مورفولوژیکی و شکل کلنی‌های آنها با باکتری‌های اسید لاکتیک همخوانی داشت جدا گردیدند. از بین آنها بر اساس ویژگی‌های مورفولوژی کلنی‌ها، 48 جدایه انتخاب و بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی در حد جنس شناسایی شدند (جدول 1).

سوم (مرحله اتصال³) دمای 56/5°C به‌مدت 30 ثانیه، مرحله چهارم (توسعه⁴) دمای 72°C به مدت 2 دقیقه و مرحله پنجم (توسعه نهایی⁵) دمای 72°C به مدت 10 دقیقه انجام پذیرفت (Taheri *et al.*, 2009; Platero *et al.*, 2009).

الکتروفورز محصول PCR

بررسی محصولات PCR روی ژل آگارز 1/5 درصد (W/V) در بافر TBE.1X صورت گرفت. برای این منظور 2/5 میکرولیتر از محصول واکنش PCR (آمپلیکون) و همچنین 5 میکرولیتر لدر⁶ به چاهک‌ها انتقال یافت. یک چاهک به‌عنوان کنترل منفی (محصول واکنش PCR فاقد DNA) در نظر گرفته شد. الکتروفورز به مدت 40 دقیقه با ولتاژ 90 ولت انجام پذیرفت. سپس ژل آگارز در دستگاه ژل داک قرار گرفت و تشکیل باند 1500 bp بررسی شد (Alegría *et al.*, 2009).

تخلیص محصولات PCR

به‌منظور تعیین توالی محصولات PCR نیاز به تخلیص آنها می‌باشد. تخلیص نمونه‌ها توسط شرکت ماکروژن کره انجام گرفت.

تعیین توالی جدایه‌ها

جدایه‌ها جهت تعیین توالی به شرکت ماکروژن کره ارسال گردیدند.

رسم درخت فیلوژنتیکی

ابتدا محصولات PCRها جهت توالی‌یابی (یک‌طرفه با کمک پرایمر 27F) به شرکت سکانس‌کننده Macrogen کره جنوبی ارسال

جدول 1- نتایج آزمایش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی جدایه‌های هویج تخمیری (بر اساس منبع: Patil *et al.*, 2010, Saeedi *et al.*, 2015)

شماره گروه	درصد فراوانی حضور	رشد در pH=9.6	رشد در pH=4.4	رشد در 6/5% نمک	رشد در دمای 10°C	رشد در دمای 45°C	تولید گاز	جنس احتمالی
1	4/08	-	+	+	-	-	-	پدیوکوکوس
2	34/69	±	+	±	+	-	-	لاکتوباسیلوس
3	36/74	+	-	-	+	±	+	هوموفرمانتاتیو
4	20/41	-	±	±	+	-	+	لاکتوباسیلوس هتروفرمانتاتیو
5	4/08	+	+	+	+	+	-	لوکونوستوک انتروکوکوس

هوموفرمانتاتیوی بودند که در دمای 10°C و pH=4/4 قادر به رشد نبوده، این گروه به‌عنوان لاکتوباسیلوس‌های هوموفرمانتاتیو در نظر گرفته شدند. گروه سوم شامل باسیل‌های هتروفرمانتاتیوی بودند که در دمای 10°C و pH= 9/6 به‌خوبی رشد کردند، این گروه به‌عنوان

بر این اساس گروه یک، کوکسی‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی و هوموفرمانتاتیو با آرایش سلولی تتراد بودند که در دمای 10°C و pH= 9/6 رشد نکردند، اما قادر به رشد در حضور 6/5 درصد نمک بودند، لذا احتمالاً متعلق به جنس پدیوکوکوس هستند. گروه دوم باسیل‌های

5 Final Extension
6 Ladder

3 Annealing
4 Extension

خاستگاه گونه‌هایی مانند پلاتناروم که گیاهی می‌باشد، امری منطقی به نظر می‌رسد.

همانطور که در جدول شماره 3 مشاهده می‌گردد، تعداد و فراوانی جنس و گونه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک شناسایی شده بر اساس روش تخمیر قند، به تفکیک مراحل مختلف تخمیر هویج آورده شده است. در بین جنس‌های شناسایی شده، جنس لاکتوباسیلوس بیشترین تنوع گونه‌ای را به‌خود اختصاص داده است و در بین گونه‌ها، گونه لاکتوباسیلوس پلاتناروم بیشترین فراوانی (9 مورد) را دارا می‌باشد. در مجموع از 49 ایزوله، آزمون با روش تخمیر قند تعداد 48 ایزوله با این روش شناسایی شده و یک ایزوله (ایزوله شماره 161) شناسایی نگردید.

اثر زمان تخمیر بر رشد باکتری‌های اسید لاکتیک در کل

زمان فرآیند تخمیر

نتایج حاصل از اثر زمان تخمیر بر رشد باکتری‌های اسید لاکتیک بر حسب Log CFU/g در طی 32 روز زمان تخمیر در شکل 1، آمده است.

نتایج حاصل از اثر زمان تخمیر بر رشد باکتری‌های اسید لاکتیک در کل فرآیند تخمیر نشان داد که رشد باکتری‌های اسید لاکتیک از روز اول تا روز شانزدهم ($p < 0/01$) افزایش و از روز شانزدهم تا بیست و چهارم کاهش یافته بود. از روز بیست و چهارم تا سی و دوم اختلاف معنی‌داری در رشد آنها مشاهده نشد. نتایج حاصل از تغییرات اسیدیته و pH در طی زمان تخمیر در شکل 2 نشان داده شده است.

رشد باکتری‌های اسید لاکتیک به‌طور پیوسته تا روز شانزدهم افزایش و از روز شانزدهم به بعد روند کاهشی پیدا کرد این موضوع ممکن است به این دلیل باشد که تا روز شانزدهم به دلیل کافی بودن مواد مغذی و pH مناسب برای رشد، میکروارگانیسم‌ها فعالیت نموده و در نتیجه اسیدیته افزایش و pH فرآورده تخمیری کاهش یافته است ($P < 0/05$) (شکل 1) (سعیدی، 1392). اما بعد از روز شانزدهم با کم شدن مواد مغذی و نامناسب شدن pH فرآورده تخمیری رقابت بین میکروارگانیسم‌ها افزایش یافته و از سرعت رشد باکتری‌های اسید لاکتیک کاسته می‌شود.

شناسایی جدایه‌های برگزیده با روش مولکولی

پس از جداسازی 144 ایزوله با تکیه بر خصوصیات مورفولوژیکی از محیط‌های کشت اختصاصی لاکتوباسیلوس‌ها، تعداد 47 جدایه بر اساس آزمون‌های تخمیر قند شناسایی شدند.

لاکتوباسیلوس‌های هتروفرمنتاتیو در نظر گرفته شدند. در گروه چهارم کوکسی‌هایی کاتالاز منفی و هتروفرمنتاتیوی قرار داشتند که در دمای 10°C قادر به رشد بوده، اما در $\text{pH}=9/6$ رشد نکردند، این گروه به‌عنوان جنس لوکونوستوک در نظر گرفته شدند. کوکسی‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی، هوموفرمنتاتیو قادر به رشد در دمای 45°C و به غلظت 6/5 درصد نمک، که در $\text{pH}=4/4$ و $\text{pH}=9/6$ نیز رشد کردند در گروه پنج به‌عنوان جنس انتروکوکوس جای گرفتند (Axelsson, et al., 2004; Tamang et al., 2005; Schleifer, 2009; 2010; Patil).

نتایج آزمایش تخمیر کربو هیدرات‌های مختلف

شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک که صرفاً بر پایه آزمایش‌های بیوشیمیایی استوار باشد ممکن است باعث تشخیص اشتباه گردد. زیرا این باکتری‌ها در بسیاری از ویژگی‌ها مشترک هستند (et al., 2004). نتایج حاصل از تخمیر کربو هیدرات‌ها صرفاً برای گروه‌بندی جدایه‌ها استفاده شد تا بر اساس این نتایج از هر گروه چند جدایه جهت شناسایی دقیق با روش مولکولی انتخاب شوند. نتایج حاصل از تخمیر ده قند گلوز، فروکتوز، گالاکتوز مانیتول، سوربیتول، ملیبوز، مالتوز، ساکارز، لاکتوز و رافینوز جدایه‌های هویج تخمیری در جدول 2، آمده است. بر اساس جلد سوم کتاب Bergey's manual of systematic bacteriology و نیز نتایج حاصل از آزمایش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و تخمیر قندهای مختلف، جنس و گونه باکتری‌ها مشخص و در جدول 2، ملاحظه می‌گردد. از میان 47 ایزوله مورد آزمون، جنس‌های پدیوکوکوس (2 مورد)، لوکونوستوک (10 مورد)، لاکتوباسیلوس (33 مورد) و انتروکوکوس (2 مورد) را به‌خود اختصاص دادند. که در این میان، گونه‌های *Lactobacillus kimchi* و *Lactobacillus parakefiri* نیز به چشم می‌خورند. از نزدیک‌ترین محصولات به محصول هویج تخمیری، سالاد زمستانی⁷ (Saeedi et al., 2015) و کیمچی، یک محصول کره‌ای تخمیری سبزیجات، می‌باشند به‌طوری‌که فلور لاکتیکی عمده شناسایی شده در تخمیر کیمچی متعلق به جنس‌های ویسلا، لوکونوستوک، لاکتوباسیلوس و به میزان کمتر پدیوکوکوس و انتروکوکوس می‌باشند (Choi et al., 2002; Lee et al., 2002). همانطور که ملاحظه می‌شود بیشترین فراوانی مربوط به جنس لاکتوباسیلوس و در داخل این جنس، گونه‌های پلاتناروم و برویس به تعداد بیشتری دیده می‌شوند که با توجه به

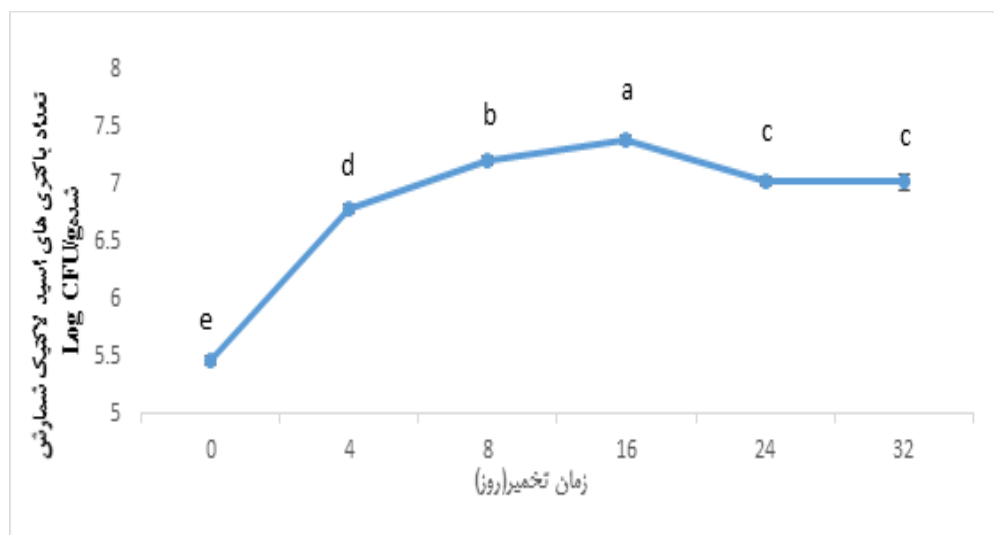
جدول 2- نتایج حاصل از پروفایل تخمیر کربوهیدرات‌ها توسط جدایه‌ها (بر اساس منبع جلد سوم کتاب Bergey's manual of systematic bacteriology)

نوع قند شماره	ساکارز	سوربیتول	راقیوز	ملیبوز	مانیتول	مالتوز	لاکتوز	گلوکز	گالاکتوز	فروکتوز	نوع قند شماره
2	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
3	+	-	+	+	d	+	-	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
4	+	+	+	-	+	+	ND	+	+	+	<i>Lactobacillus coryniformis</i>
5، 6، 6، 5	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus paraplantarum</i> (3)
6	+	-	-	+	d	+	d	ND	d	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
9	+	-	+	+	d	+	-	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
14	+	-	-	+	d	+	d	+	d	+	<i>Leuconostoc lactis</i>
16	+	-	+	+	-	d	-	+	+	+	<i>Lactobacillus brevis</i>
18	+	-	-	+	-	+	d	+	-	+	<i>Lactobacillus brevis</i>
20	-	-	+	d	-	+	-	+	-	+	<i>Lactobacillus brevis</i>
27، 29، 30، 32، 39، 40، 43، 44، 46، 47، 50، 52، 53، 54، 55، 56، 57، 58، 59، 60، 61، 62، 63، 64، 65، 66، 67، 68، 69، 70، 71، 72، 73، 74، 75، 76، 77، 78، 79، 80، 81، 82، 83، 84، 85، 86، 87، 88، 89، 90، 91، 92، 93، 94، 95، 96، 97، 98، 99، 100، 101، 102، 103، 104، 105، 106، 107، 108، 109، 110، 111، 112، 113، 114، 115، 116، 117، 118، 119، 120، 121، 122، 123، 124، 125، 126، 127، 128، 129، 130، 131، 132، 133، 134، 135، 136، 137، 138، 139، 140، 141، 142، 143، 144، 145، 146، 147، 148، 149، 150، 151، 152، 153، 154، 155، 156، 157، 158، 159، 160، 161	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i> (9)
32	+	-	-	-	ND	+	-	d	-	+	<i>Lactobacillus ferintoshensis</i>
35	-	-	-	-	d	-	d	+	+	+	<i>Pediococcus damnosus</i>
42	+	-	-	d	-	+	-	+	+	+	<i>Lactobacillus brevis</i>
44	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	<i>Lactobacillus kimchi</i>
48	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
53	-	+	-	-	+	ND	+	+	+	+	<i>Lactobacillus paracasei</i>
60	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
61	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	<i>Lactobacillus galinarum</i>
68	-	-	-	-	-	+	ND	d	d	+	<i>Lactobacillus brevis</i>
101	+	d	+	+	d	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc lactis</i>
105	+	d	-	-	-	-	-	+	+	d	<i>Lactobacillus acidipiscis</i>
106	+	-	-	+	-	d	+	+	+	+	<i>Lactobacillus kimchi</i>
107	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus casei</i>
112	-	-	-	d	-	+	-	+	-	+	<i>Lactobacillus acidifarinae</i>
113	+	-	-	d	-	+	-	+	+	+	<i>Lactobacillus kimchi</i>
114	--	-	-	-	-	-	-	+	+	+	<i>Enterococcus faecium</i>
116	+	-	-	-	d	+	-	d	d	+	<i>Lactobacillus acidifarinae</i>
123	-	-	-	-	d	-	d	+	-	-	<i>Lactobacillus amylovorus</i>
125	+	ND	-	-	ND	-	d	+	ND	ND	<i>Lactobacillus amylovorus</i>
127	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Lactobacillus coryniformis</i>
129	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>
142	+	-	d	+	-	+	-	+	+	ND	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
145	-	-	-	-	-	+	ND	+	+	+	<i>Lactobacillus parakefiri</i>
150	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus faecium</i>
151	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc lactis</i>
160	-	-	ND	-	-	+	d	+	+	+	<i>Lactobacillus parakefiri</i>
161	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-

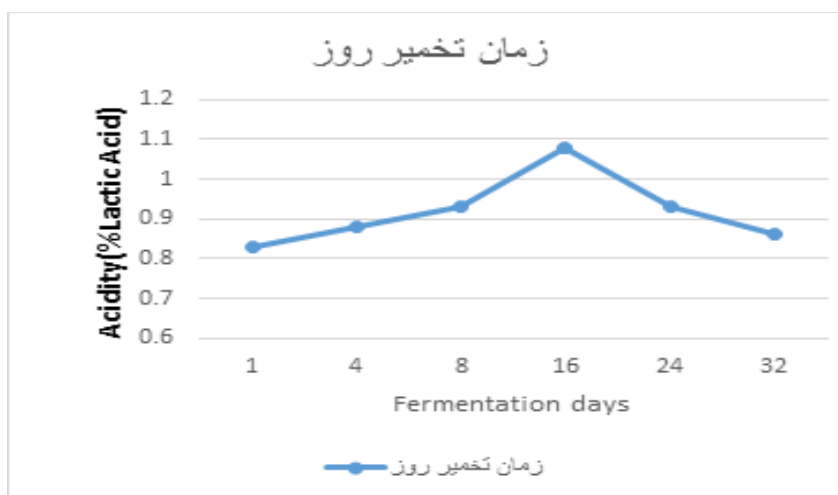
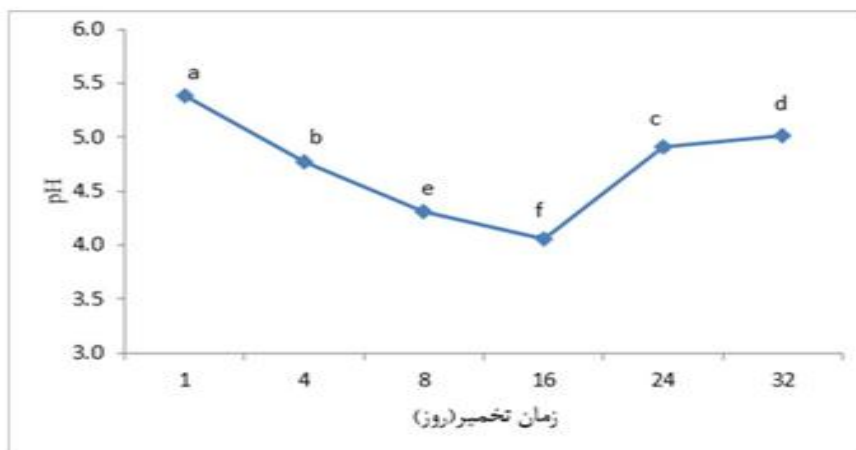
d مشکوک به تخمیر قند، ND آزمون انجام نگرفته + تخمیر شده، - تخمیر نشده

جدول 3- تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک حاصل از پروفاایل تخمیر کربوهیدرات‌ها توسط جدایه‌ها به تفکیک جنس و گونه و در مراحل مختلف تخمیر هویج تخمیری

		مراحل تخمیر						جنس و گونه	
جمع		روز 32	روز 24	روز 16	روز 8	روز 4	روز صفر		
6	1	1			1	1	2	<i>mesenteroides</i>	<i>Leuconostoc</i>
1						1		<i>pseudomesenteroides</i>	
3					1		2	<i>lactis</i>	<i>Pediococcus</i>
1						1		<i>pentosaceus</i>	
1			1					<i>Damnusus</i>	<i>Lactobacillus</i>
2			1		1			<i>coryniformis</i>	
3	1	1			1			<i>Paraplantarum</i>	<i>Enterococcus</i>
5	1					1	3	<i>brevis</i>	
9	3	1	1	1	3	1		<i>plantarum</i>	<i>Enterococcus</i>
1				1				<i>ferintoshensis</i>	
3	1				1	1		<i>kimchi</i>	<i>Lactobacillus</i>
1					1			<i>Paracasei</i>	
1	1							<i>galinarum</i>	<i>Lactobacillus</i>
1			1					<i>acidipiscis</i>	
1						1		<i>casei</i>	<i>Lactobacillus</i>
2	2							<i>acidifarinae</i>	
2			1		1			<i>amylovorus</i>	<i>Lactobacillus</i>
2	1	1						<i>parakefiri</i>	
2				1		1		<i>faeccium</i>	<i>Enterococcus</i>
47									جمع کل ایزوله‌ها



شکل 1- اثر زمان تخمیر بر رشد باکتری‌های اسید لاکتیک در کل زمان فرایند تخمیر.



شکل 2- تغییرات کلی pH و اسیدیته هویج تخمیری در طی زمان نگهداری

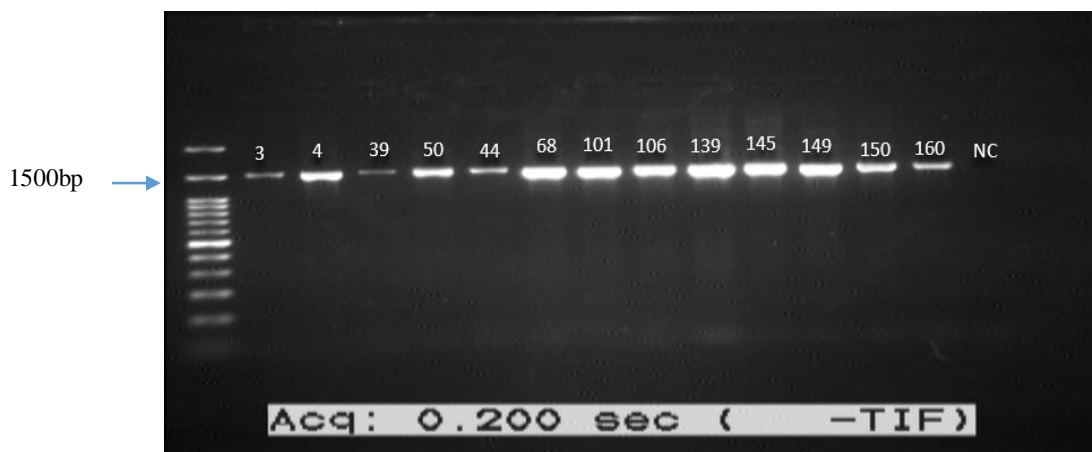
نتایج توالی‌یابی جدایه‌های منتخب توسط شرکت سکانس‌کننده

با توجه به نتایج آنالیز مولکولی در جدول 4، جدایه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم (9 مورد)، لاکتوباسیلوس برویس (8 مورد)، لاکونوستوک منترویدس (4 مورد)، لاکتوباسیلوس کارژی (یک مورد)، لاکتوباسیلوس پارکازی (یک مورد) و لاکتوباسیلوس پانتیریس (یک مورد)، و دو مورد هم تا سطح جنس شناسایی شدند که متعلق به جنس لاکتوباسیلوس بودند، از مجموع 26 جدایه شناسایی شده به روش مولکولی را به‌خود اختصاص دادند. از نظر تفکیک ایزوله‌ها بر اساس روز تخمیر، نتایج مولکولی به‌صورت ذیل به‌دست آمد: روز صفر، از سه ایزوله (لوپکونوستوک منترویدس 2، لاکتوباسیلوس پلانتروم 1 مورد)؛ روز 4 تخمیر، از پنج ایزوله (لوپکونوستوک منترویدس 1، لاکتوباسیلوس پلانتروم 2 لاکتوباسیلوس برویس 2 مورد)؛ روز 8 تخمیر، از پنج ایزوله (لاکتوباسیلوس پلانتروم 2، لاکتوباسیلوس پاراکارژی 1، جنس لاکتوباسیلوس 1 و لوپکونوستوک منترویدس 1)؛ روز شانزدهم تخمیر، از دو ایزوله (لاکتوباسیلوس پلانتروم 2 مورد)، روز بیست و چهارم، از شش ایزوله (لاکتوباسیلوس پلانتروم 2

توالی نوکلئوتیدی 16S rRNA یک مبنای دقیق برای آنالیز فیلوژنتیک و شناسایی فراهم می‌کند. پس از استخراج DNA از جدایه‌ها کیفیت و کمیت مطلوب آن‌ها توسط دستگاه نانودراپ و الکتروفورز تعیین شد و سپس 26 جدایه با توجه به شناسایی بر اساس آزمون‌های فیزیوشیمیایی و تخمیر قند و همچنین کیفیت و کمیت مطلوب DNA استخراجی انتخاب و عملیات PCR بر روی آن‌ها انجام پذیرفت، در نهایت آمپلیکون‌های به‌دست آمده روی ژل آگارز برده شد (Kermanshahi and Peymanfar, 2012).

همانطور که در شکل 3، مشاهده می‌گردد باندهای حاصل از ژل الکتروفورز PCR جدایه‌های منتخب دارای باندهای مناسب برای توالی‌یابی بود که جهت توالی‌یابی به شرکت ماکروژن کره ارسال گردید

لاکتوباسیلوس برویس 2، لاکتوباسیلوس پتتریس 1 و لاکتوباسیلوس کارژی 1 (مورد) و روز سی و دوم از پنج ایزوله (لاکتوباسیلوس برویس 4 و جنس لاکتوباسیلوس 1 مورد) ..



3: *Leuconostoc mesenteroides*, 4: *Lactobacillus plantarum*, 39: *Lactobacillus plantarum*, 50: *Lactobacillus plantarum*, 44: *Lactobacillus paracasei*, 68: *Lactobacillus brevis*, 101: *Leuconostoc mesenteroides*, 106: *Lactobacillus brevis*, 139: *Lactobacillus casei*, 145: *Lactobacillus brevis*, 149: *Lactobacillus plantarum*, 150: *Lactobacillus plantarum*, 160: *Lactobacillus brevis* and Negative Control (NC).

شکل 3- باندهای 1500bp حاصل از تکثیر ژن 16S rRNA، NC: کنترل منفی، نشانگر 1، 100 bp+3K.

جدول 4- نتایج شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از نمونه‌های هویج تخمیری در طی دوره نگهداری با استفاده از روش مولکولی و مقایسه آن با نتایج حاصل از تخمیر قند

ردیف	کد جدایه	نتیجه توالی‌یابی مجدد	روز نمونه‌گیری	شباهت (%)	نزدیک‌ترین سویه در پایگاه داده NCBI	شناسایی با روش تخمیر قند	شماره دسترسی ²
1	G6		صفر	98	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain KLDS 5.0606	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	EU419608.1
2	G9		صفر	98	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain SCWL 05	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	KM922563.1
3	G14	99% <i>Lactobacillus plantarum</i> strain KLDS 1.0728	صفر	95	Lactobacillus sp. sy4	<i>Leuconostoc lactis</i>	KJ801851.1
4	G3		4	97	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain MFL24	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	KF697659.1
5	G35	98% Lactobacillus sp. sy4	4	96	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain KLAB1	<i>Pediococcus damnosus</i>	KM497500.1
6	G39	97% <i>Lactobacillus</i>	4	97	Lactobacillus sp. sy4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	KJ801851.1

1 Ladder

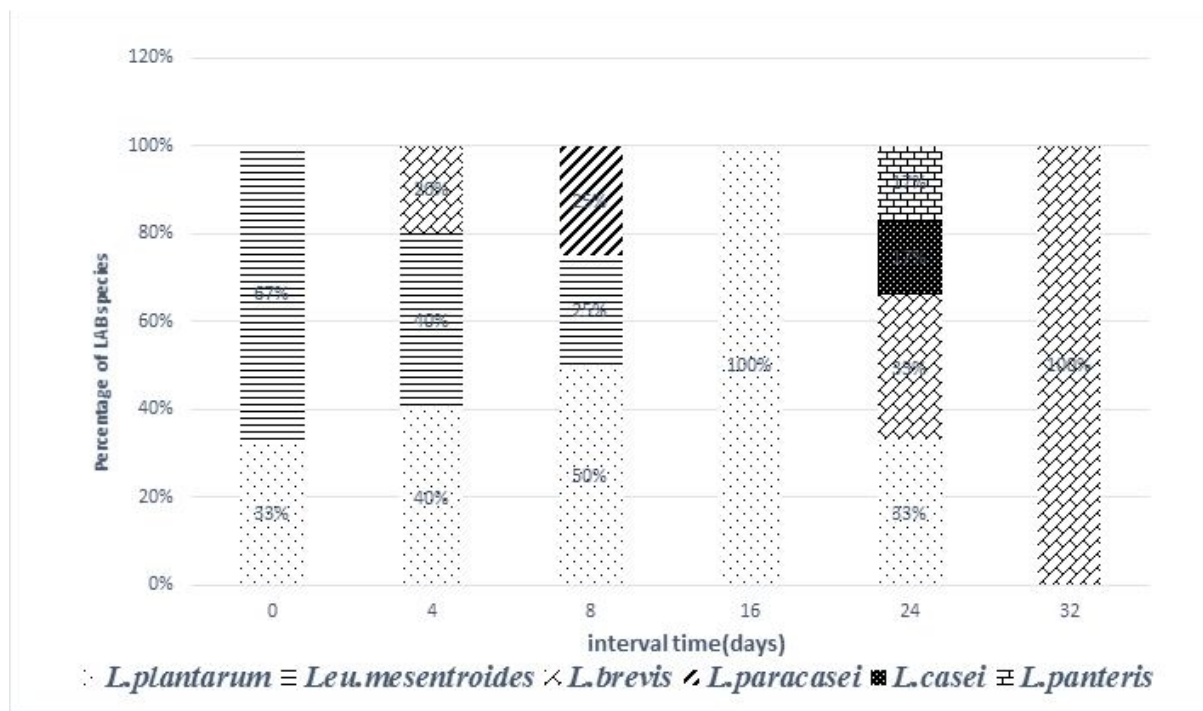
2 Accession Number

JX966418.1	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i> strain NSe1	99	4	<i>plantarum</i> strain LCN 56	G42	7
KF246513.1	<i>Leuconostoc.pseudomesenteroides</i>	<i>Lactobacillus brevis</i> strain p-18	98	4		G129	8
KM495889.1	<i>Lactobacillus coryniformis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain gp86	98	8		G4	9
HM151330.1	<i>Lactobacillus kimchi</i>	Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp.	99	8	96% <i>Lactobacillus paracasei</i> strain IIA	G44	10
KT025848.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain KF	92	8	92% <i>Lactobacillus plantarum</i> strain KF	G50	11
KJ801851.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	<i>Lactobacillus</i> sp. sy4	95	8	96% <i>Lactobacillus</i> sp. sy4	G52	12
KF697619.1	<i>Leuconostoc lactis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain MPL24	99	8		G101	13
KR055061.1	<i>Lactobacillus ferinfoshensis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain CSCWL 6-14	93	16	94% <i>Lactobacillus plantarum</i> strain LY21	G32	14
EU600920.1	<i>Lactobacillus gallinarum</i>	<i>Lactobacillus</i> sp. KLDS 1.0717	99	16	96% <i>Lactobacillus plantarum</i> strain LP1-4	G150	15
KM495883.1	<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain gp57	98	24		G56	16
AB932522.1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Lactobacillus pantheris</i>	99	24		G60	17
KP889229.1	<i>Lactobacillus coryniformis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i> strain FJ004	97	24		G127	18
KC568563.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus casei</i> strain MRTL3	89	24	92% <i>Lactobacillus casei</i> strain a4	G139	19
HM162416.1	<i>Lactobacillus parakefiri</i>	<i>Lactobacillus brevis</i> strain CGMCC_1.2028	97	24		G145	20
KC148528.1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus</i> sp. CPP1	94	24	96% <i>Lactobacillus plantarum</i> strain CMGB-L1	G149	21
KM269721.1	<i>Lactobacillus gallinarum</i>	<i>Lactobacillus</i> sp. L729(LBF2) C04	99	32	97% <i>Lactobacillus</i> sp. SMG131	G61	22

FJ227314.1	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i> strain bh3	98	32	G68	23
KM495917.1	<i>Lactobacillus kimchi</i>	<i>Lactobacillus brevis</i> strain gp66	95	32	98% <i>Lactobacillus brevis</i> strain gp42	G106 24
FJ227314.1	<i>Lactobacillus acidifarinae</i>	<i>Lactobacillus brevis</i> strain bh3	98	32	G116	25
AB548886.1	<i>Lactobacillus parakefiri</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	99	32	G160	26

به‌طور کلی می‌توان گفت که در یک تخمیر گیاهی طبیعی در ابتدا سویه‌های هتروفرمنتاتیو حضور دارند و در ادامه هوموفرمنتاتیوها غالب خواهند شد. کلم ترش یا ساور کراوت از فرآورده‌های تخمیر گیاهی است که مطالعات زیادی در در مورد مراحل تخمیر آن انجام شده است.

تغییرات و تنوع جنس و گونه‌های فلور لاکتیکی در مراحل تخمیر هویج تخمیری
با وجود اینکه تخمیرهای گیاهی متنوع هستند و فرآورده نهایی بستگی به میکروارگانیسم‌هایی دارد که تخمیر را انجام می‌دهند، اما



شکل 4- تغییرات جنس‌های مختلف باکتری‌های اسید لاکتیک (بر حسب درصد) طی مراحل مختلف تخمیر

هشتم حضور فعال داشتند، ولی از روز هشتم به بعد مشاهده نشدند. عدم حضور جنس لویکونوستوک در روزهای بعدی تخمیر، ممکن است به دلیل کاهش pH، در روزهای ذکر شده باشد (شکل 2). زیرا که گونه‌های این جنس غیراسید دوست بوده و pH حدود 6/5 را ترجیح می‌دهند (Schleifer 2009). لاکتوباسیلوس پلانتروم از روز اول مشاهده شد و تا روز بیست و چهارم حضور داشت ولی در روز شانزدهم

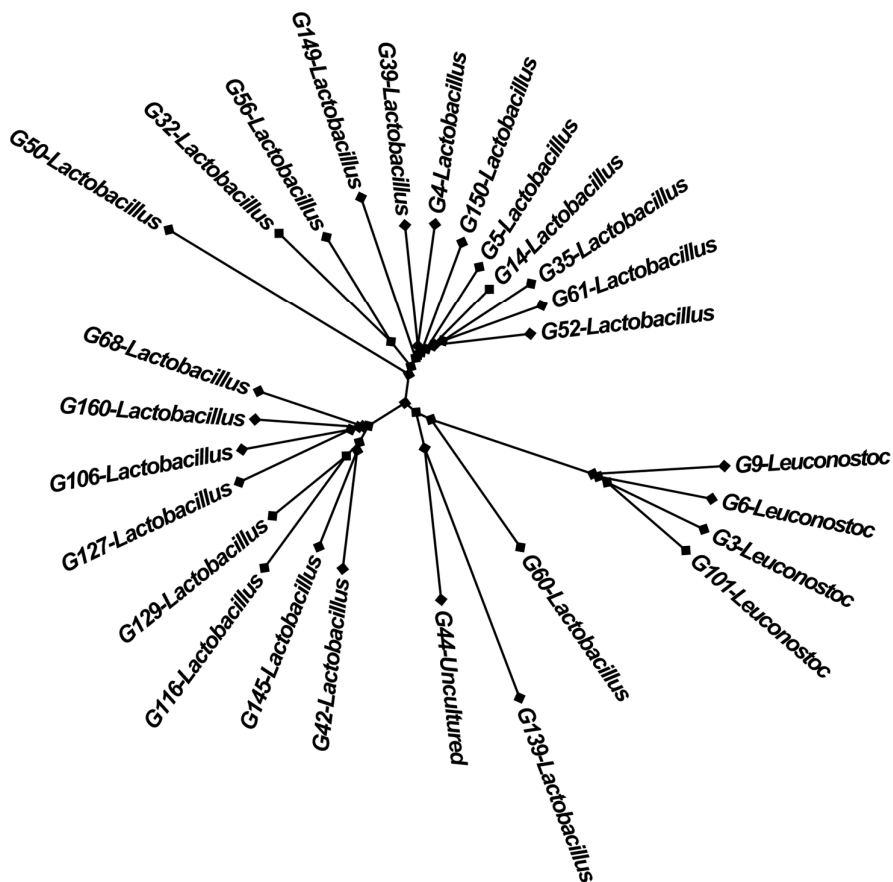
تحقیقات نشان داده است که قندهای اصلی در کلم، گلوکز، فروکتوز و به مقدار کمتر ساکارز هستند. این قندها طی هفته اول تخمیر توسط میکروارگانیسم‌های هتروفرمنتاتیو به اسید لاکتیک، اسید استیک، مانیتول، اتانول و دی‌اکسید کربن، که برای ایجاد شرایط بی‌هوازی لازم است تبدیل می‌شوند (Bamforth, 2005). در این پژوهش، ابتدا باکتری‌های لوکونوستوک در روزهای اول (زمان صفر) تا

درخت فیلوژنتیکی

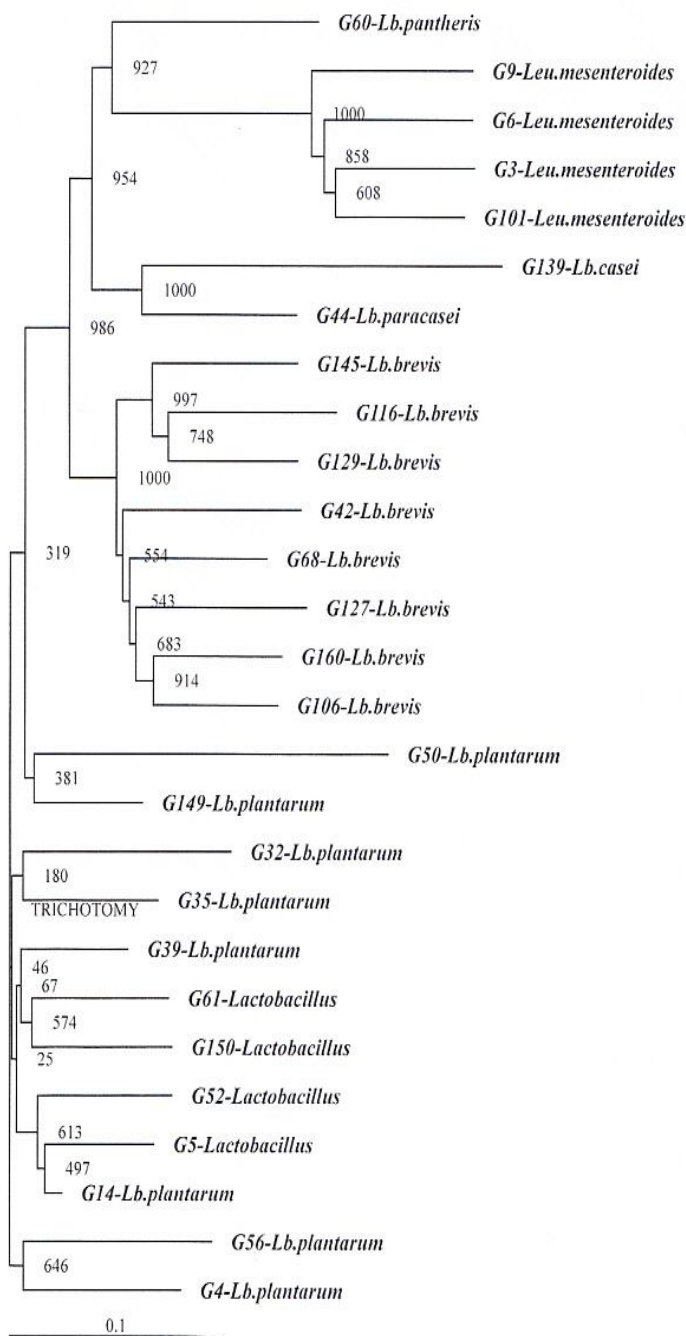
درخت (شکل 5)، موقعیت فیلوژنتیکی جدایه‌های به‌دست آمده از هویج تخمیری را نسبت به هم نشان می‌دهد. به‌طور کلی درخت رسم شده شامل سه خوشه، خوشه شماره 1، شامل سه زیرخوشه (ایزوله‌های G42, G44, G139, G101, G3, G6, G9, G60 شامل سه زیرخوشه) (شامل ایزوله‌های G50, G32, G56, G149, G39 شامل G52, G14, G61, G5, G150)، و در نهایت خوشه شماره 3، شامل دو زیرخوشه (شامل ایزوله‌های G106, G127, G160, G68, G129, G145, G116) بود. شکل 6، نشان می‌دهد که خوشه اول شامل سه زیرخوشه و دو جنس لوکونوستوک (گونه مزترئودس) و لاکتوباسیلوس (گونه‌های پانتیریس، کازئی و پاراکازئی) بود. خوشه دوم شامل گونه *Lactobacillus brevis* و در نهایت خوشه سوم نیز شامل گونه *Lactobacillus plantarum* بود.

باکتری غالب بود. لاکتوباسیلوس برویس از روز چهارم مشاهده گردید، ولی در روز سی و دوم باکتری غالب بود.

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش باکتری‌های اسید لاکتیک از جنس لاکتوباسیلوس و لوکونوستوک قبل از شروع تخمیر در فرآورده حضور داشتند. در این میان باکتری‌های هتروفرمنتاتیو نظیر لوکونوستوک غالب بوده و با تولید اسید لاکتیک، اسید استیک و دی‌اکسید کربن آغازکننده تخمیر بوده‌اند. در مراحل بعدی تخمیر و به مرور سویه‌های هوموفرمنتاتیو جایگزین سویه‌های هتروفرمنتاتیو شدند. اما در مراحل پایانی تخمیر، لاکتوباسیلوس برویس که باکتری هتروفرمنتاتیو اجباری می‌باشد به خاطر افزایش اسیدیته و مقاومت بهتر آن به شرایط اسیدی این باکتری در روز سی و دوم گونه غالب را تشکیل می‌داد. لاکتوباسیلوس کازئی و پانتیریس در روز شانزدهم مشاهده گردیدند و لاکتوباسیلوس پاراکازئی در روز هشتم مشاهده گردید و دیگر اثری از آنها نبود (شکل 4).



شکل 5- درخت فیلوژنتیکی (نمودار ریشه‌ای) ترسیم شده براساس مقایسه توالی‌های ژن 16SrRNA متعلق به گونه‌های باکتریایی شناسایی شده از هویج تخمیری



شکل 6- درخت فیلوژنتیکی (نمودار قائم) ترسیم شده بر اساس مقایسه توالی‌های ژن 16S rRNA متعلق به گونه‌های باکتریایی شناسایی شده از هویج تخمیری

نتیجه‌گیری

موثق نبوده و حتماً باید صحت و سقم آنها با روش مولکولی سنجیده شود.

همچنین از بین 26 گونه تعیین توالی شده ایزوله شده از محصول هویج تخمیری، سویه‌های ارزشمندی همچون، لوکونستوک مزترئویدس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس برویس و سویه‌های نادرتری مانند لاکتوباسیلوس کیمچی، لاکتوباسیلوس پاراکفیری در روزهای پایانی تخمیر شناسایی شدند که البته با روش مولکولی تایید نشدند. در پایان می‌توان نتیجه گرفت از آنجا که روش مولکولی به کار گرفته شده نیز یک روش مبتنی بر کشت بوده و استخراج DNA را از کلونی‌های رشد یافته بر روی محیط کشت، انجام می‌دهد، بنابراین انجام روش‌های مولکولی مستقل از کشت مانند DGGE، به‌عنوان مکمل این روش‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

- سعیدی، م. 1392. جداسازی و شناسایی فلور لاکتیکی سالاد زمستانه (شوری) بر پایه روش های کلاسیک و مولکولی. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد، صفحات 62-35.
- عدالتیان، م.ر. 1390. شناسایی و تعیین هویت فلور لاکتیکی پنیر های حاصل از شیر خام با استفاده از روش های مبتنی بر کشت و روش های مولکولی، رساله دکتری، دانشگاه فردوسی مشهد، صفحات 76-75.
- کریمی، م. 1378. چاشنی های غذایی محلی ایران، انتشارات صدف، چاپ سوم، صفحات 56-47.
- یاورمنش، م. مرتضوی، ع؛ حبیبی نجفی، م.ب. 1386. پیش بینی کیفیت میکروبی شیرخام براساس مدل های ریاضی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، صفحات 55-54.
- Abdi, R., Sheikh-Zeinoddin, M., Soleimanian-Zad, S. 2006. Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Iranian Lighvan Cheese. Pakistan Journal of Biological Sciences, 9(1): 99-103.
- Alegria A., Alvarez-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: 44-51.
- Axelsson, L. 2004. Lactic Acid Bacteria: classification and physiology. In: Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. Salminen, S., Wright, A. V., Ouwehand, A.(Eds.) Marcel Dekker. New York. pp 19-86.
- Bamforth, W. CH. 2005. Food Fermentation and Microorganisms. Blackwell publishing company London. pp 103-142.
- Choi, H.J., Cheigh, C.I., Kim, S.B., Lee, J.C., Lee, D.W., Choi, S.W., Park, J.M. and Pyun, Y.R. 2002. *Weissella kimchii* sp. nov., a novel lactic acid bacterium from kimchi. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 52, 507-511.
- Duan, Y., Tan, Z., Wang, Y., Li, Z., Li, Z., Qin, G., Huo, Y., Cai, Y. 2008 Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from Tibetan Qula cheese. Journal of General and Applied Microbiology, 54(1): 51-60.
- Ebing, P., K. Rutgers. 2006. "Starter Cultures ". Preparation of Dairy Products. (Eds.) T.V.D. Haven. Netherlands, Digigrafi, 35-41.
- Fitzsimons, N.A, Cogan, T.M, Condon, S, Beresford, T., 1999. Phenotypic and genotypic characterization of non-starter lactic acid bacteria in mature cheddar cheese. Applied and Environmental Microbiology. 65: 3418 - 3426.
- Giraffa, G., Andrighetto, C., and Antonella, C. 2004. Genotyping and phenotypic diversity of lactobacillus delbrueckii. International Journal of Food Microbiology, 91: 129-139.
- Grosu-tudor, S.S., and Zamfir, M. 2011. Isolation and Characterization of Lactic acid bacteria from Romanian Fermented Vegetables. Romanian Biotechnological Letters. 16, 148-154
- Jahandideh, F., Mousavi, S.M., Razavi, S.H., 2011. Utilization of Echim amoenum extract as a growth medium for the production of organic acid by selected lactic acid bacteria. Food Bioprocess Technology. 5 (6): 2275-2279.
- Kermanshahi, R.K., Peymanfar, S. 2012. Isolation and identification of lactobacilli from cheese, yoghurt and silage by 16S rDNA gene and study of bacteriocin and bio surfactant production. Jundishapur Journal of Microbiology, 5(4): 528-532.
- Lampe, J.W. 1999. Health effects of vegetables and fruit assessing mechanisms of action in human experimental. American Journal of Clinical Nutrition. 70:475-490.
- Lee, J.S., Lee, K.C., Ahn, J.S., Mheen, T.I., Pyun, Y.R. and Park, Y.H. 2002. *Weissella koreensis* sp. nov. isolated from kimchi. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 52, 1257-1261.

- Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, M., Jain, S., Marotta, F., Singh, V., And Yadav, h. 2008. Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of Digestive Disease*, 9:190-198.
- Nikita, C., Hemangi, D. 2012. Isolation, Identification and characterization of lactic acid bacteria from dairy sludge sample. *Journal of Environmental Research and Development*. Vol, 7(1A): 234-244.
- Nilay Demir, K., Savas, B., Jale, A. 2006. The Effects of Different Initial *Lactobacillus plantarum* Concentration on Some Properties of Fermented Carrot Juice. 30:352-363.
- Patil, M. M., Pal, A., Anad, T., and Ramana, K. V. 2010. Isolation and characterization Lactic Acid Bacteria from curd and cucumber. *Indian Journal of Biotechnology*, 9: 166-172.
- Platero, A., Maqueda, M., Valdivida, E., and Purwani, J. 2009. Polyphasic study of microbial communities of two Spanish farmhouse goats milk cheeses from Sierra de Aracena. *Food Microbiology*, 26: 294-304.
- Saeedi, M., Shahidi, F., Mortazavi, S. A., Milani, E., and Tabatabaei Yazdi, F. 2015. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria in Winter Salad (Local Pickle) during Fermentation Using 16S rRNA Gene Sequence Analysis. *Journal of Food Safety*, 35(3):287-294.
- Salmon, C.N., Bailey-Shaw, Y.A., Hibbert, S., Green, C., Smith, A.M. and Williams, L.A., 2012. Characterisation of cultivars of Jamaican ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) by HPTLC and HPLC. *Food Chemistry*, 131(4): 1517-1522.
- Şengül, M. 2006. Microbiological characterization of Civil cheese, a traditional Turkish cheese: microbiological quality, isolation and identification of its indigenous Lactobacilli. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(6): 613-618.
- Schleifer, K.H. 2009. phylum XIII. Firmicutes. Gibbons and Murray 1978. In: *Bergey's Manual Of Systematic bacteriology*. Volume Three. (2 edition), Vos, D.F., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainery, York. pp 625-634.
- Tamang, B., Tamang, J. P., Schillinger, U., Franz, C. M. A. P., Groes, M., and Holzapfel, W. H. 2007. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from ethnic fermented bamboo tender shoots of North East India. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 35-40.
- Tamang, J. P., Tamang, B., Schillinger, U., Franz, C. M. A. P., Groes, M., and Holzapfel, W. H. 2005. Identification of Predominant Lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented vegetable Products of the Eastern Himalayas. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 347-356.
- Taheri, H. R., Moravej, H., Tabandeh, F., Zaghari, M., and Shivazad, M., 2009. Screening of Lactic acid bacteria toward their selection as a source of chicken probiotic. *Poultry Science*, 88(8): 1586-1593.
- Yang, G.H., Guan, J.J., Wang, J.S., Yin, H.C., Qiao, F.D. and Jia, F., 2012. Physicochemical and sensory characterization of ginger-juice yogurt during fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 21(6):1541-1548

Identification of lactic flora of fermented carrot using biochemical and molecular method and determination of their relationship with phylogenetic analysis

M. E. Goharjoo¹, M. R. Edalatian Dovom^{2*}, F. Shahidi³, F. Tabatabaei Yazdi³, M. J. Varidi³

Received: 2018.03.03

Accepted: 2019.03.10

Introduction: Carrot products such as carrot juice and fermented carrot products possess high nutritional value and they are considered as a major source of β -carotene. Carotenoids because of containing conjugated double bonds, have antioxidant properties and provide the natural yellow, orange and red colors in fruits and vegetables. Due to the outbreak of some problems such as lactose-intolerance and high blood cholesterol especially in dairy products' consumption, great attention has been drawn toward fermented vegetable products. Lactic acid bacteria (LAB) including important genera: leuconostocs, lactobacilli, streptococci and pediococci are wide-spread and have been divided according to morphological features and fermentation pathway, which utilize glucose. Current knowledge regarding involved microorganisms in vegetable fermentation is still dependent on biochemical and classical data. Nowadays, application of molecular methods in the field of microbial identification has been provided better understanding from fermented foods ecology. Since local starter cultures are considered as precious genetic resources in each country and also they play an important role in production and creation of organoleptic characteristics in fermented products, therefore, the objective of present study was the isolation and identification of lactic flora from fermented carrot with the help of conventional (biochemical) and molecular methods and determination of phylogenetic relationships.

Materials and methods: Following the production of fermented carrot samples, they were packed in plastic container and stored at ambient temperatures (25-27°C). In the next step, total LAB count was performed according to Iranian standard of 5484. Isolation and selection of LAB was done during 32 days with the intervals of 0, 4, 8, 16, 24 and 32. For initial identification of LAB, isolated were subjected to gram staining and catalase tests. Also biochemical tests including growth at 15 and 45C, at NaCl 6.5% and 18%, pH=4.4 and 9.6, were done in order to identify and classify at genus level. Carbohydrate fermentation profiles were obtained for isolates with the aid of 10 sugars. Molecular identification was done with DNA extraction followed by amplification of 16S gene with universal primers (27 F and 1492 R). For sequencing of resulted PCR-products, they were sent to Macrogen Company, South Korea. Phylogenetic tree was plotted with Clustal Omega and Fig. Tree soft wares.

Results and discussion: In the first step, 144 gram positive, catalase negative isolates were screened and selected as presumptive LAB according to gram staining and catalase test and morphological characteristics. Among them, 48 representative isolates were chosen and identified up to genus level according to biochemical tests. Five distinct genera were identified as *Pediococci* (4.08%), homofermentative *Lactobacilli* (34.69%), hetero fermentative *Lactobacilli* (36.74%), *Leuconostocs* (20.41%) and *enterococci* (4.08%). Carbohydrate fermentation profiles revealed *Lactobacilli* constitute the highest percent among other genera and also some species like *Lb. kimchi* and *Lb. parakefiri* were detected. Growth of lactic acid bacteria experienced increasing trend up to day-16 but thereafter showed decline trend until the end of storage time (day-32). 26 out of 48 isolates were subjected to molecular analysis. Results of sequencing revealed following species: *Lb. plantarum* (9), *Lb. brevis* (8), *Leu. mesenteroides* (4), *Lb. casei* (1), *Lb. paracasei* (1), and *Lb. pantheris* (1). Changes and variation of lactic flora during fermentation stages revealed that at initial stages of fermentation (0- day-8) *Leuconostocs sp.* were predominant species but disappeared then. In the next stages of fermentation *Leuconostocs sp.* were replaced by homo-fermentative strains such as *Lb. plantarum* which was present from the first day up to day-24 but constituted the majority of species on day-16. In the final stage, *Lb. brevis* dominated the others due to better survival and resistance of this bacterium at the increased acidity level. Phylogenetic tree results

1. Former 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: edalatian@um.ac.ir)

revealed three clusters including cluster I (composed of three sub-clusters), cluster II (three sub-clusters) and cluster III (two sub-clusters). Cluster I included two genera: *Leuconostocs* sp. (*mesenteroides*) and *Lactobacillus* (*pantheris*, *casei* and *paracasei*). Cluster II included *Lb. brevis* and finally cluster III composed of *Lb. plantarum*.

Keywords: Biodiversity, Lactic acid Bacteria, Carrot, Fermentation, Phylogeny.

تعیین رابطه بین حجم و وزن میوه گلابی با میزان کبودی در اثر اعمال بار ضربه‌ای با استفاده از روش غیرمخرب سی تی اسکن

محسن آزادبخت^{1*} - محمدجواد محمودی² - محمد واحدی ترشیزی²

تاریخ دریافت: 1397/02/07

تاریخ پذیرش: 1397/10/09

چکیده

ارزیابی کیفیت میوه‌ها و سبزیجات با استفاده از روش‌های غیرمخربی نظیر سی تی اسکن از جمله پرکاربردترین روش‌های ارزیابی می‌باشد. لذا در این پژوهش، مقدار کوفتگی گلابی در اثر بارگذاری دینامیکی و ارتباط آن با حجم و وزن گلابی طی دوره انبارمانی با استفاده از روش غیرمخرب سی تی اسکن مورد بررسی قرار گرفت. قبل از بارگذاری تعداد 50 گلابی با استفاده از سی تی اسکن بررسی شده و تعداد 27 گلابی با درصد پوسیدگی صفر انتخاب شدند. تحت بارگذاری دینامیکی با استفاده از یک آونگ با سه وزنه 300، 350 و 400 گرمی قرار داده شد و به منظور بررسی حجم کل و حجم پوسیدگی نمونه‌ها، در دوره‌های انبارمانی 5، 10 و 15 روز، تصویرگیری با استفاده از سی تی اسکن نیز انجام شد. نتایج حاکی از آن بود که با افزایش حجم گلابی، درصد پوسیدگی کاهش پیدا کرد و برخلاف آن با افزایش وزن گلابی، مقدار درصد پوسیدگی نیز افزایش یافت. همچنین بین درصد کاهش حجم و وزن با درصد پوسیدگی یک رابطه مستقیم وجود داشت بدین صورت که با افزایش درصد کاهش حجم و وزن درصد پوسیدگی افزایش پیدا کرد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت هرچه تغییرات حجم و وزن قبل و بعد از ضربه کمتر باشد میوه سالم‌تر بوده و درصد پوسیدگی کمتر خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: گلابی، سی تی اسکن، غیرمخرب، کوفتگی، حجم

مقدمه

و در نتیجه در کاهش زمان خشک شدن خشک‌کن مفید است. در میان این ویژگی‌های فیزیکی، جرم، حجم، سطح میوه در تعیین سیستم‌های اندازه‌گیری بسیار اهمیت دارند (Shahbazi and Rahmati, 2013) (Pathare *et al.*, 2012). خسارت وارد به میوه ممکن است به دلایل مختلفی از جمله، ضربه، فشار و ارتعاش باشد که تمامی این موارد باعث خسارات فیزیکی در همان لحظه و یا در زمان انبارداری می‌گردد که میزان خسارات وارده بستگی به محل واردسازی ضربه، اندازه و بلوغ میوه ارتباط دارد (Babic *et al.*, 2015) (Opara and Pathare, 2014) (Stropek and Gołacki, 2015). همچنین برخی از محققان معتقد هستند که شاید بر اثر ضربات با نیروی، کم اتفاقی در میوه مورد نظر نیافتد اما زمانی که بخشی از میوه مورد نظر در حین ضربه آسیب فیزیکی می‌بیند در طی فرایند نگهداری کبودی قابل ملاحظه‌ای مشاهده می‌شود. همچنین شواهد فیزیکی عبارتند از شکستگی سلول‌ها و تغییر رنگ در میوه مورد نظر است و زمانی اتفاق می‌افتد که تک تک سلول‌ها در دیواره سلولی میوه تحت فشار قرار گرفته باشند و در نهایت می‌شکنند که همین امر باعث تغییر رنگ قسمت مورد نظر می‌شود (Opara and Pathare, 2014). همچنین سطح و خصوصیات فیزیکی

بررسی ارتباط بین ویژگی‌های فیزیکی مانند جرم و حجم با دیگر خواص فیزیکی مانند ابعاد هندسی موضوع مطالعات محققان فراوانی بوده است (Soltani *et al.*, 2011). برای انجام برداشت، حمل و نقل و نگهداری مناسب از مواد کشاورزی، و فرایندهای تبدیل این مواد به مواد غذایی و خوراکی، نیاز به درک عمیقی از خواص فیزیکی میوه‌ها است. حجم، جرم، اندازه و شکل اغلب برای توصیف مواد کشاورزی استفاده می‌شود. ابعاد، شکل و اندازه فیزیکی در مرتب‌سازی و اندازه‌گیری میوه‌ها مهم هستند به طوری که با دانستن این خواص می‌توان میوه‌ها را در جعبه‌ها و پلاستیک‌های مناسب جهت حمل و نقل قرار داد (Sabzi *et al.*, 2013) (Hazbavi *et al.*, 2015). همچنین ویژگی‌های ظاهری میوه‌ها ارزش آنها را در بازار تحت تاثیر قرار می‌دهد از این رو، مهم است که پس از برداشت میوه‌ها را به خوبی کنترل کرد همچنین خصوصیات فیزیکی میوه‌ها باعث افزایش صادرات می‌گردد (Ganiron, 2014). حجم و شکل میوه می‌تواند تعداد میوه‌هایی را که می‌توان آنها را در یک بسته با اندازه مشخص قرار داد، تعیین کند. همچنین حجم و سطح میوه در پیش‌بینی مطلوب میزان خشک شدن

* - نویسنده مسئول: (Email: azadbakht@gau.ac.ir)
DOI: 10.22067/iftstrj.v15i2.72354

1 و 2- به ترتیب دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مکانیک بیوسیستم، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

گلابی ضربه وارد می‌شود دچار آسیب‌هایی درونی در طی انبارداری می‌شوند که در این تحقیق به تعیین رابطه بین حجم و وزن میوه گلابی با میزان درصد کبودی این میوه در طی مدت انبارداری در اثر بارهای دینامیکی وارده با کمک آزمون غیر مخرب سی‌تی‌اسکن پرداخته شده است تا بتوان با افزایش کیفیت میوه گلابی بعد از آسیب فیزیکی آن به بهترین شکل انبارداری حفظ نموده در اختیار مشتریان قرار داد.

مواد و روش‌ها

گلابی‌های رقم اسپادانا از بازار استان گلستان - گرگان، ایران تهیه شدند و نمونه‌ها به آزمایشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد و پس از شستشو رطوبت آنها با استفاده از آون و روش استاندارد اندازه‌گیری شد (Azadbakht *et al.*, 2017). میزان رطوبت اندازه‌گیری شده برای گلابی بر مبنای وزن تر 77/92% بود.

تصویربرداری با روش سی تی اسکن آماده‌سازی گلابی

در این آزمایش تعداد 50 عدد گلابی برای آزمایش انتخاب گردید و از این گلابی‌ها با استفاده از روش غیرمخرب سی‌تی اسکن تصویربرداری گردید و تعداد 27 گلابی که هیچ کبودی در درون خود نداشتند انتخاب شد. سپس گلابی‌ها پس از بارگذاری‌های دینامیکی در سه دوره 5، 10 و 15 روز در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انبار شد. شرایط محیطی انبار به‌صورتی بود که مشابه مراکز فروش قرار گرفتند تا بتوان میوه‌ها را در حین نگهداری تا مصرف مورد بررسی قرار داد. دمای هوای محیط برای نگهداری گلابی‌ها 14 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 66 درصد بود.

آزمون ضربه

ابتدا دستگاه پاندول و وزنه‌های مورد نیاز در کارگاه گروه مکانیک بیوسیستم گرگان ساخته شد (شکل 1). سپس میوه‌ها در محل مورد نظر قرار داده شد و بازوی دستگاه تا زاویه مورد نظر (90 درجه) بالا برده شد و در حالت کنترل شده بازو رها و به گلابی برخورد کرد. دستگاه آونگ دارای بازوی 200 گرمی و سه وزنه متصل مختلف 100، 150 و 200 گرم برای ضربه زدن بود. لازم به ذکر است از مقاومت هوا و اصطکاک صرف نظر شده است.

تصویربرداری

برای انجام تصویربرداری، گلابی‌ها به محل آزمایش برده شد و پس از راهاندازی دستگاه سی‌تی اسکن از طریق اتاق کنترل (شکل 2- شماره 1) در درون محفظه سی‌تی اسکن قرار داده شد (شکل 2- شماره 3) و از طریق لوله اشعه (شکل 2- شماره 4) اشعه‌های ایکس به سمت

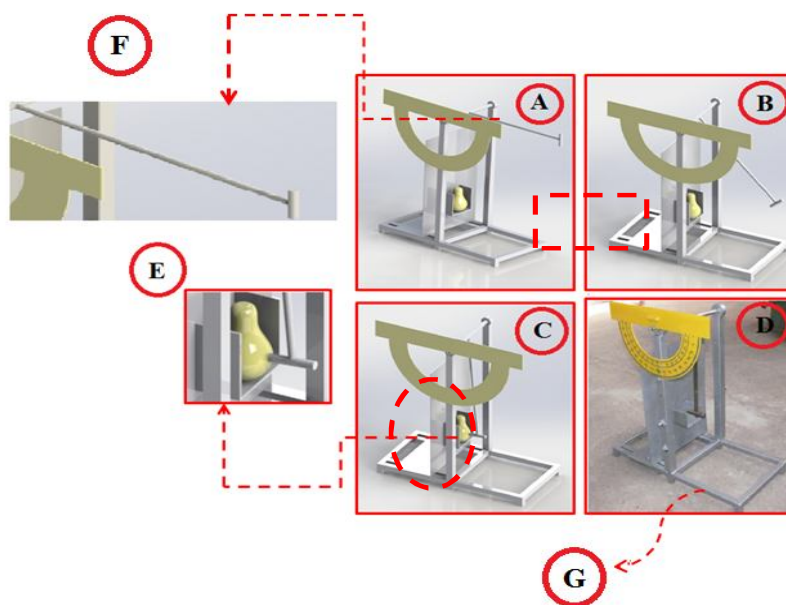
محصولات کشاورزی برای ذخیره‌سازی نیز اهمیت بسیار زیادی دارد از طرفی آسیب‌های سلولی و نیروهای وارده به میوه‌ها باعث می‌شود که کبودی در میوه‌ها رخ دهد که با بررسی خواص فیزیکی می‌توان این عامل را کنترل کرد (Abera *et al.*, 2014). با توجه به تولید برخی سبزیجات تازه و میوه‌ها در مناطق خاصی از جهان و نیاز به مصرف در مناطق دیگر، این موضوع به توزیع موثر نیاز دارد که مستلزم بررسی آسیب‌های مکانیکی به‌وجود آمده ناشی از بارهای خارجی در طول مسافت می‌باشد. اگرچه برآورد هزینه‌های پس از برداشت محصول بسیار دشوار است، با این حال تلفات در مناطق گرمسیری بین 50-70 درصد ارزیابی شده است. علت اصلی این تلفات آسیب مکانیکی (کبودی) به علت ضربه است که می‌تواند ناشی از لرزش و یا سقوط ناگهانی از ارتفاع‌های مختلف باشد. در طول سال‌ها، مطالعات متعددی برای ارزیابی خواص مکانیکی و حساسیت به کبودی میوه‌ها و سبزیجات انجام شده است که کبودی در میوه‌ها و سبزیجات را ناشی از اصطکاک و فشار یک محصول با محصول مجاور، ظروف بسته‌بندی، قسمت‌های تجهیزات پردازش و درخت می‌دانند (Idah *et al.*, 2007). ارزیابی کیفیت معمولاً با استفاده از ترکیبی از روش‌های مخرب و غیرمخرب، عموماً توسط تولیدکنندگان محصول و یا اولین خریداران انجام می‌شود و شامل جداسازی مواد بر اساس اندازه و وزن مخصوص می‌باشند (Kotwaliwale *et al.*, 2007). از جمله روش‌های غیرمخرب پرکاربرد می‌توان به استفاده از CT و اشعه ایکس اشاره کرد که این اجازه را به فرد محقق می‌دهد که کبودی را در بازه‌های زمانی مختلف در میوه بررسی کند زیرا اندازه‌گیری کبودی‌ها با این روش مشکلی برای اندازه‌گیری حتی در موارد پیچیده نیز به‌وجود نمی‌آورد (Diels *et al.*, 2017).

Kabas (2010) برای توصیف حجم کبودی در گلابی آنکارا، از پنج مدل ریاضی استفاده کرد و نتیجه گرفت حجم کبودی با استفاده از تکنیک‌های پردازش تصویر مجاز بوده و قابل تایید است. Peleg و Hinga (1986) طی تحقیقات گسترده‌ای بر روی میوه‌ها و سبزیجات نتیجه گرفتند که ممکن است 30-40 درصد محصولات تحت تاثیر کبودی و انواع آسیب‌های مکانیکی، از برداشت تا بازار قرار گیرند. Brusewitz و Bartsch (1989)، Brusewitz و همکاران (1991)، Zarifneshtat و همکاران (2012) و Ahmadi و همکاران (2010) چندین پارامتر مربوط به کبودی مانند نیروی حداکثری ضربه، انرژی جذب شده، زمان تماس، منطقه تماس و زمان برای نیروی حداکثری را بررسی کردند و در نتایجی چگونگی ارتباط این پارامترها به حجم کبودی و نحوه استفاده از آن‌ها برای تخمین حجم کبودی به‌صورت خودکار را نشان دادند.

حجم و وزن میوه‌ها برای انبارداری، جابه‌جایی، بسته‌بندی و غیره از اهمیت بالایی برخوردار بوده و تاثیر به‌سزایی بر روی میزان کبودی و پوسیدگی میوه‌ها داشته‌اند و زمانی که در حین برداشت و جابه‌جایی به

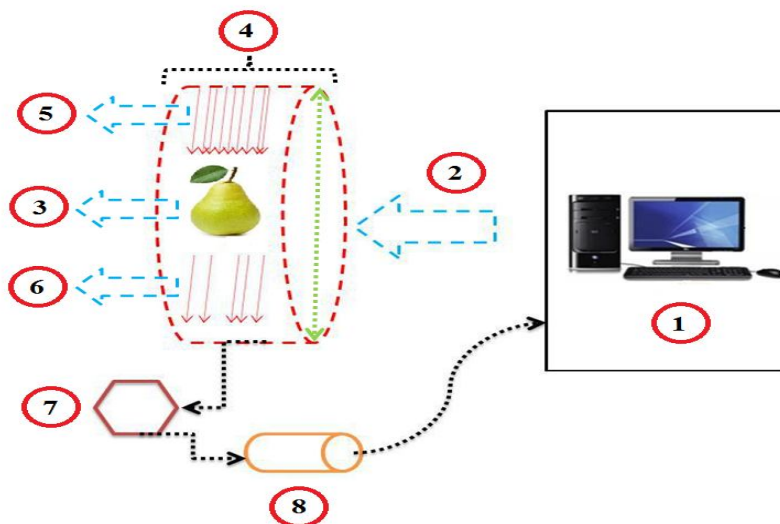
با استفاده از یک تبدیل کننده نوری به کدهای تصویر تبدیل (شکل 2- شماره 8) و به اتاق کامپیوتر برای بازسازی تصاویر ارسال گردید. در شکل 2 فرایند تصویربرداری سی تی اسکن نشان داده شده است.

گلابی‌ها تابیده شد (شکل 2- شماره 5). مقداری از این انرژی‌ها جذب گلابی گردید و مابقی اشعه‌های تابیده شده از گلابی رد شد (شکل 2- شماره 5 و 6) و نورهای رد شده از گلابی به وسیله کریستال‌های موجود در درون محفظه سی تی اسکن جذب گردید (شکل 2- شماره 7). سپس



شکل 1- شماتیک دستگاه ضربه

A: پاندول در زاویه 90 درجه B: پاندول در حال طی کردن مسیر C: برخورد پاندول به گلابی D: نمایی اصلی دستگاه E: محل قرار گیری گلابی F: پاندول ضربه زن G: بدنه دستگاه



شکل 2- فرایند تصویربرداری سی تی اسکن

1- اتاق کامپیوتر 2- محل ورودی دستگاه 3- محل قرار گیری محصول 4- لوله اشعه 5- اشعه پرتاب شده 6- اشعه رد شده از محصول 7- کریستال های گیرنده اشعه 8- تبدیل کننده نوری

ولتاژ 80 کیلوولت و جریان 120 میلی‌آمپر انجام شد و برای ایجاد تصاویر کامل از برش‌های 1 میلی‌متری استفاده شد. تصاویر ایجاد شده به وسیله نرم‌افزار ایجادکننده تصویر Syngo CT 2012 ثبت شده و تصاویر دو بعدی و سیاه سفید تهیه و استخراج گردید. Convolution kernel که میزان رزولوشن تصاویر را بیان می‌کند B31Smooth بوده و تصاویر به وسیله ماتریس‌های 512 در 512 تشکیل گردیده است.

5، 10 و 15 روز پس از بارگذاری دینامیکی هر گلابی، با دستگاه Computed Tomography (CT) Scans siemens somotam emotion 16 slice اسکن شد. این دستگاه ساخت کشور آلمان بوده و از دستگاه‌های CT نسل سوم محسوب می‌شود که در آن Tube و Detector رو به روی یکدیگر قرار داشته که به صورت 360 درجه به دور گلابی‌ها به صورت متوالی گردش کرده تا تصویر ایجاد شود. همچنین پیچ دستگاه برای آزمایش 1 پیچ بود ثبت تصاویر نیز در



شکل 3- دستگاه سی تی اسکن استفاده شده در تحقیق

کم گردید و میزان اختلاف یا کاهش حجم به دست آمد. با تقسیم اختلاف حجم بر حجم قبل از بارگذاری گلابی درصد کاهش حجم گلابی در طی انبارداری محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نمونه‌ها پس از بارگذاری‌های دینامیکی در سه دوره 5، 10 و 15 روز انبار شدند. سپس عکس‌برداری انجام شد. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و نتایج با استفاده از آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها بار روش LSD و در سطح احتمال 5 درصد با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تحلیل شدند.

نتایج و بحث

نتایج آنالیز واریانس درصد کاهش وزن، وزن گلابی قبل از ضربه، درصد کاهش حجم، حجم گلابی‌ها قبل از ضربه و درصد پوسیدگی در جدول نشان داده شده است. با توجه به جدول 1 اثر دوره انبارداری بر میزان حجم گلابی قبل از ضربه، درصد کاهش وزن و درصد پوسیدگی و همچنین نیروی بارگذاری نیز برای درصد کاهش وزن و درصد پوسیدگی در سطح احتمال 1 درصد معنی‌دار شده است. اثر دوره انبارداری برای وزن گلابی قبل از ضربه نیز در سطح 5 درصد معنی‌دار شده و بر درصد کاهش حجم معنی‌دار نشده است. اثر نیروی وزن گلابی قبل از ضربه، درصد کاهش حجم و حجم گلابی قبل از ضربه معنی‌دار نشده است. همچنین اثر متقابل نیروی بارگذاری و دوره انبارداری

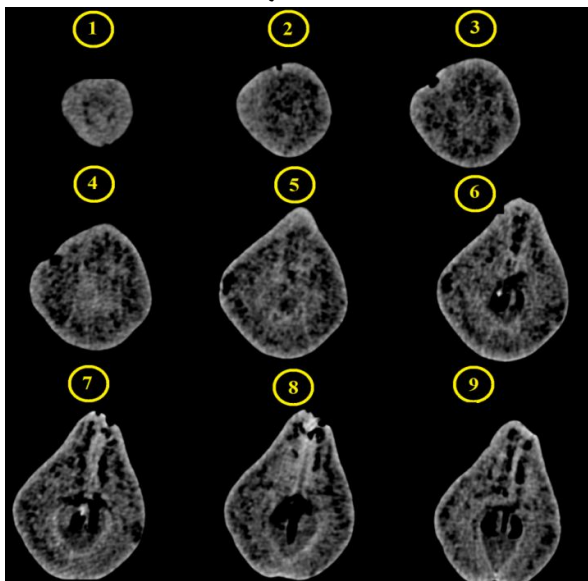
هدف از فاصله زمانی‌های بین کبودی و تصویربرداری به این دلیل بود که به کبودی اجازه تثبیت بهتر بر روی میوه را بدهد و رطوبت کبودی کاهش پیدا کند. این تفاوت رطوبت می‌تواند جذب اشعه ایکس بین بافت کبود و سالم را افزایش دهد. سپس با استفاده از نتایج دستگاه میزان حجم کل میوه، میزان حجم کبودی هر میوه و همچنین تصاویر دو بعدی رنگی برای هر کبودی در روی میوه اندازه‌گیری و ثبت گردید (Diels et al., 2017). نسبت حجم کبودی به حجم کل هر گلابی به دست آمده با سی تی اسکن محاسبه شد و با زمان بارگذاری در نرم‌افزار اکسل ثبت شد. در شکل 3 دستگاه مورد استفاده در این آزمایش و محل قرارگیری گلابی برای بررسی نشان داده شده است. همچنین طی تصویربرداری هر گلابی به‌طور میانگین از 70 تا 100 تصویر برای رسیدن به شکل کامل گلابی برای بازسازی سه بعدی تصویربرداری شد. مراحل تکمیل هر تصویر تا رسیدن به تصویر نهایی در شکل 4 نشان داده شده است. همچنین تصویر بازسازی شده دو بعدی گلابی نیز در شکل 5 نشان داده شده است که می‌توان این تصویر را به دو قسمت بافت سالم و بافت پوسیده تقسیم‌بندی کرد. در شکل 5 شماره 1 محل کوفتگی در گلابی و شماره 2 تصویر ایجاد شده توسط سی تی اسکن است.

درصد کاهش حجم

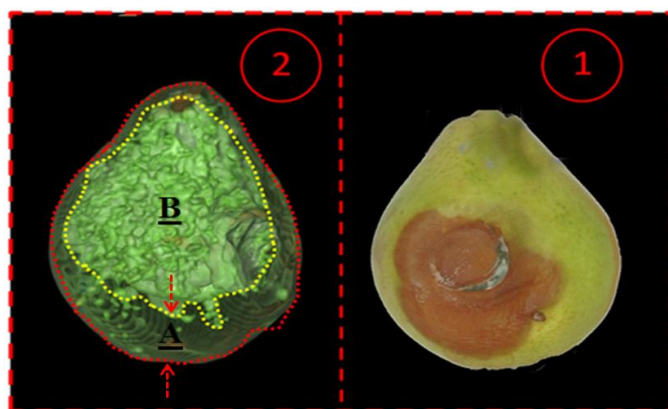
حجم گلابی‌ها قبل و بعد از بارگذاری با استفاده از سی تی اسکن اندازه‌گیری شد. سپس حجم بعد از بارگذاری از حجم قبل از بارگذاری

جدول 2 نشان‌دهنده رابطه همبستگی بین پارامترهای حجم قبل از ضربه، حجم بعد از ضربه، میزان کاهش حجم، درصد کاهش حجم و درصد پوسیدگی برای حالت ضربه‌ای با وزنه 300، 350 و 400 گرم بوده است.

برای درصد پوسیدگی و درصد کاهش حجم و وزن در سطح 5 درصد معنی‌دار شده است و برای حجم و وزن گلابی قبل از ضربه معنی‌دار نشده است.



شکل 4- مراحل ساخت تصویر سی تی اسکن



شکل 5- نمای دو بعدی گلابی قبل و بعد از از پردازش تصویر
1- پوسیدگی در تصویر واقعی 2- پوسیدگی در تصویر پردازش شده (A: بخش پوسیده B: بخش سالم)

جدول 1- آنالیز واریانس درصد کاهش وزن، وزن گلابی قبل از ضربه، درصد کاهش حجم، حجم گلابی ها قبل از ضربه و درصد پوسیدگی

درصد پوسیدگی		درصد کاهش وزن		وزن گلابی قبل ضربه		درصد کاهش حجم		حجم گلابی قبل از ضربه		
MS	FV	MS	FV	MS	FV	MS	FV	MS	FV	
1353/18	4/60**	80/84	2/63 ^{ns}	823/60	4/39*	334/04	176/44**	1936/44	39/72**	انبار
106/23	0/36 ^{ns}	21/93	0/71 ^{ns}	121/14	0/65 ^{ns}	166/04	87/70**	456/009	9/35**	نیرو
323/91	1/10 ^{ns}	92/27	3*	133/19	0/71 ^{ns}	13/98	7/38*	152/97	3/14*	نیرو* انبار
	294/24		30/78		187/77		1/89		48/75	خطا

جدول 2- رابطه همبستگی بین پارامترهای حجم قبل از ضربه، حجم بعد از ضربه، میزان کاهش حجم، درصد کاهش حجم و درصد پوسیدگی برای حالت ضربه‌ای با وزنه 300، 350 و 400 گرم

300 g					
درصد پوسیدگی	درصد کاهش وزن	وزن گلابی قبل از ضربه	درصد کاهش حجم	حجم گلابی قبل از ضربه	حجم گلابی قبل از ضربه
1	0/539 ^{ns}	0/05 ^{ns}	0/06 ^{ns}	-0/607 ^{ns}	1
	1	0/728*	-0/786*	-0/05 ^{ns}	1
		1	-0/889**	0/555 ^{ns}	1
				-0/251 ^{ns}	1
					حجم گلابی قبل از ضربه
					درصد کاهش حجم
					وزن گلابی قبل از ضربه
					درصد کاهش وزن
					درصد پوسیدگی
350 g					
درصد پوسیدگی	درصد کاهش وزن	وزن گلابی قبل از ضربه	درصد کاهش حجم	حجم گلابی قبل از ضربه	حجم گلابی قبل از ضربه
1	0/838**	0/406 ^{ns}	0/680*	-0/544 ^{ns}	1
	1	0/422 ^{ns}	-0/795*	-0/518 ^{ns}	1
		1	-0/142 ^{ns}	0/399 ^{ns}	1
				0/789*	1
					حجم گلابی قبل از ضربه
					درصد کاهش حجم
					وزن گلابی قبل از ضربه
					درصد کاهش وزن
					درصد پوسیدگی
400 g					
درصد پوسیدگی	درصد کاهش وزن	وزن گلابی قبل از ضربه	درصد کاهش حجم	حجم گلابی قبل از ضربه	حجم گلابی قبل از ضربه
1	0/901**	0/449 ^{ns}	0/132 ^{ns}	-0/585 ^{ns}	1
	1	0/652 ^{ns}	-0/601 ^{ns}	-0/553 ^{ns}	1
		1	0/290 ^{ns}	0/103 ^{ns}	1
				0/822**	1
					حجم گلابی قبل از ضربه
					درصد کاهش حجم
					وزن گلابی قبل از ضربه
					درصد کاهش وزن
					درصد پوسیدگی

وزنه 400 گرمی: با توجه به شکل 6 بیشترین میزان حجم گلابی‌ها قبل از ضربه $178/98 \text{ Cm}^3$ در دوره انبارداری 5 روزه و کمترین مقدار در $152/01 \text{ Cm}^3$ در دوره انبارداری 15 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 قطر هندسی، قطر معادل، قطر حسابی، سطح رویه و درصد کاهش حجم همبستگی مثبت و معنی‌داری با حجم گلابی‌ها قبل از ضربه داشته است. با توجه به نتایج به دست آمده از همبستگی (جدول 2) حجم گلابی‌ها قبل از ضربه با میزان درصد پوسیدگی برای هر سه وزنه همبستگی منفی و غیر معنی‌داری را داشته است. این همبستگی منفی نشان‌دهنده این است که حجم گلابی قبل از ضربه با درصد پوسیدگی رابطه عکس دارد. همانطور که در شکل 6 نیز مشاهده می‌شود با افزایش حجم میوه‌ها در دوره 10 روزه میزان درصد پوسیدگی کمتر از دوره 15 روزه است یعنی میزان حجم گلابی‌های این دوره کمتر بوده است. دلیل این امر را می‌توان اینگونه بیان کرد که با افزایش حجم گلابی‌ها زمانی که ضربه به آنها وارد می‌شود ضربه در حجم بیشتری پخش شده و همین امر سبب می‌شود که میزان کمتری از بخش ضربه خورده دچار کبودی شود ولی در گلابی‌ها کوچکتر میزان ضربه در بخش کمتری از میوه پخش می‌شود

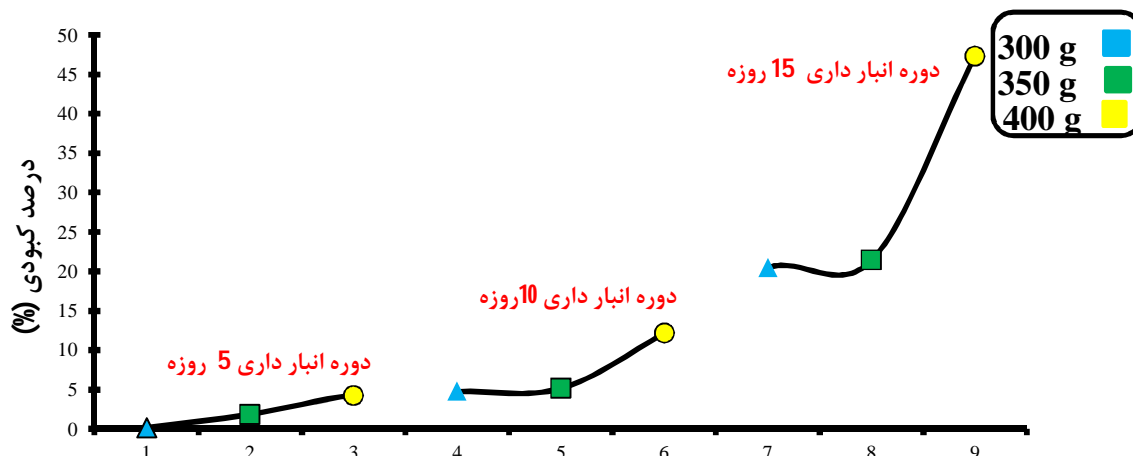
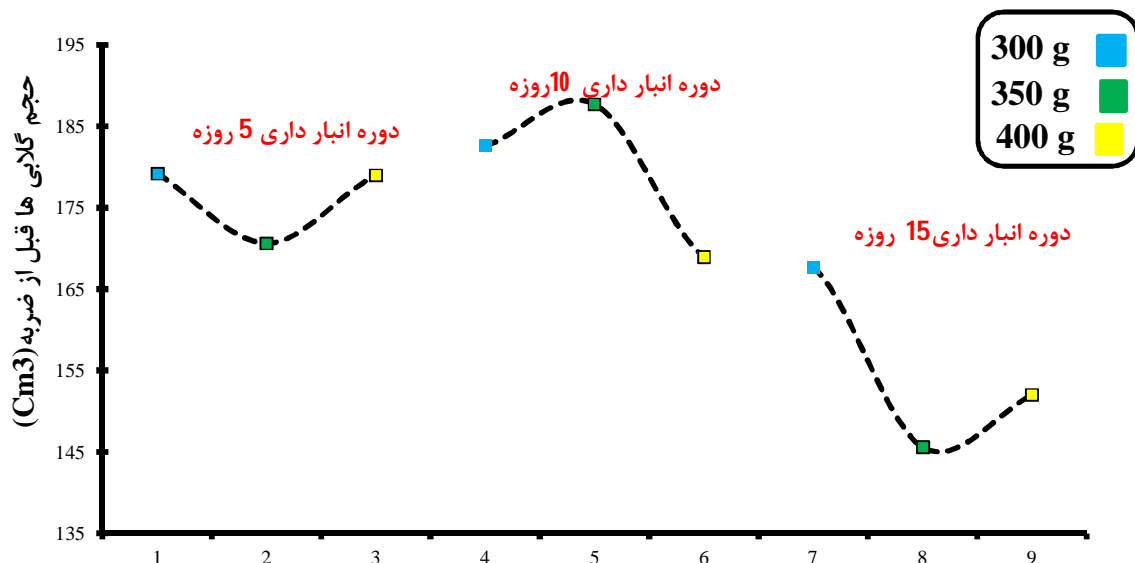
تاثیر حجم گلابی قبل از ضربه بر میزان پوسیدگی

با توجه جدول 1 حجم گلابی قبل از ضربه در دوره‌های انبارداری در سطح 1 درصد معنی‌دار شده است و برای وزنه ضربه و اثر متقابل معنی‌دار نشده است.

وزنه 300 گرمی: با توجه به شکل 6 بیشترین میزان حجم گلابی‌ها قبل از ضربه $182/6 \text{ Cm}^3$ در دوره انبارداری 10 روزه و کمترین مقدار در $145/63 \text{ Cm}^3$ در دوره انبارداری 15 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 قطر هندسی، قطر معادل، قطر حسابی، سطح رویه همبستگی مثبت و معنی‌داری با حجم گلابی‌ها قبل از ضربه داشته است.

وزنه 350 گرمی: با توجه به شکل 6 بیشترین میزان حجم گلابی‌ها قبل از ضربه $187/71 \text{ Cm}^3$ در دوره انبارداری 10 روزه و کمترین مقدار در $143/3 \text{ Cm}^3$ در دوره انبارداری 15 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 قطر هندسی، قطر معادل، قطر حسابی، سطح رویه و درصد کاهش حجم همبستگی مثبت و معنی‌داری با حجم گلابی‌ها قبل از ضربه داشته است.

و همین امر سبب افزایش میزان کبودی در گلابی می‌گردد. نتایج به‌دست آمده مشابه نتایج عابدی و احمدی (2013) بر روی سیب است.



شکل 6- تاثیر حجم گلابی قبل از ضربه بر میزان پوسیدگی

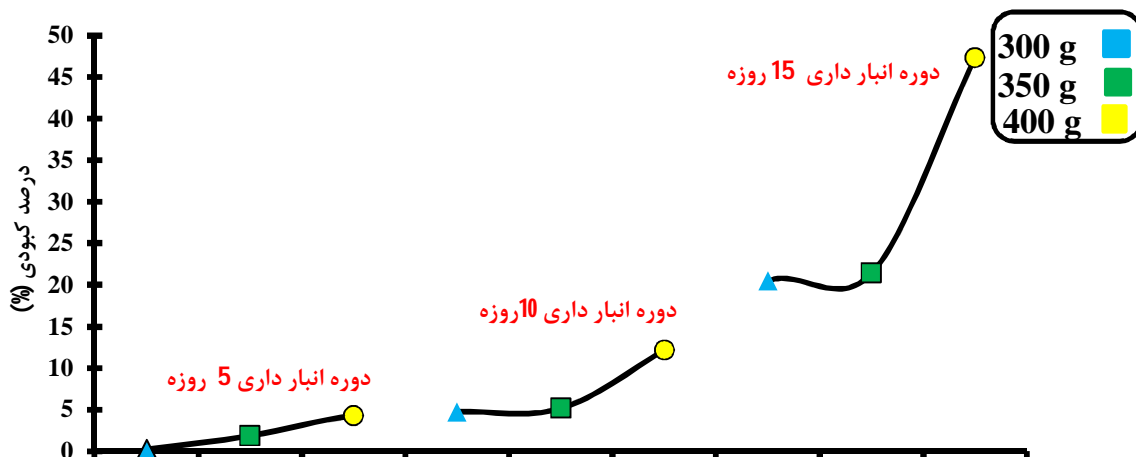
با توجه به جدول 2 وزن قبل از ضربه و درصد کاهش وزن همبستگی منفی و معنی‌داری با درصد کاهش حجم گلابی داشته است.

وزنه 350 گرمی: با توجه به شکل 7 بیشترین درصد کاهش حجم گلابی 53/83% در دوره انبارداری 10 روزه و کمترین مقدار در 40/66% در دوره انبارداری 5 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 قطر هندسی، قطر معادل، قطر حسابی، سطح رویه همبستگی مثبت و معنی‌داری و با درصد کاهش وزن همبستگی منفی و معنی‌داری با درصد کاهش حجم گلابی داشته است.

تاثیر درصد کاهش حجم بر میزان پوسیدگی

با توجه جدول 1 اثر متقابل میزان وزنه ضربه در دوره انبارداری برای درصد کاهش حجم گلابی در سطح 1 درصد معنی‌دار شده است و برای وزنه ضربه و دوره انبارداری به تنهایی معنی‌دار نشده است.

وزنه 300 گرمی: با توجه به شکل 7 بیشترین میزان حجم گلابی‌ها قبل از ضربه 48/12% در دوره انبارداری 15 روزه و کمترین مقدار در 39/19% در دوره انبارداری 5 روزه مشاهده شده است. همچنین



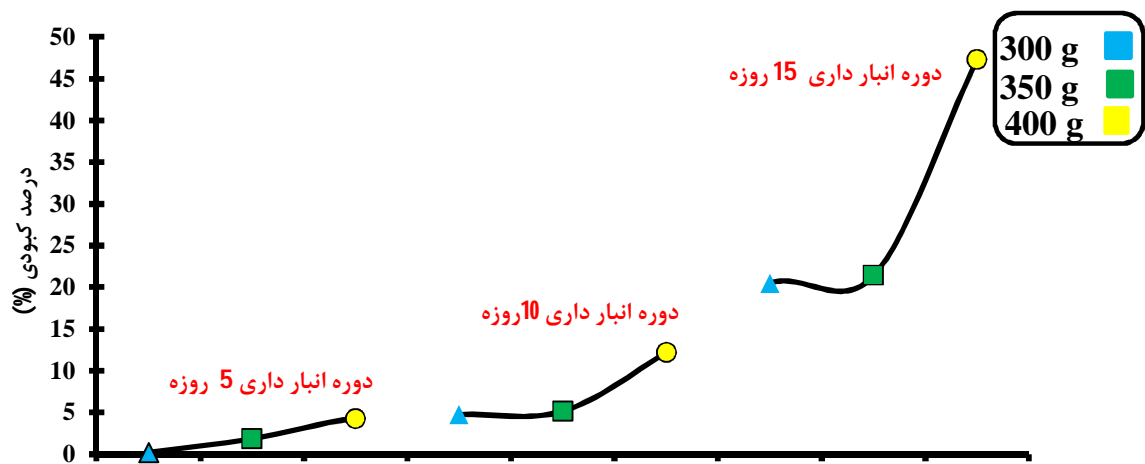
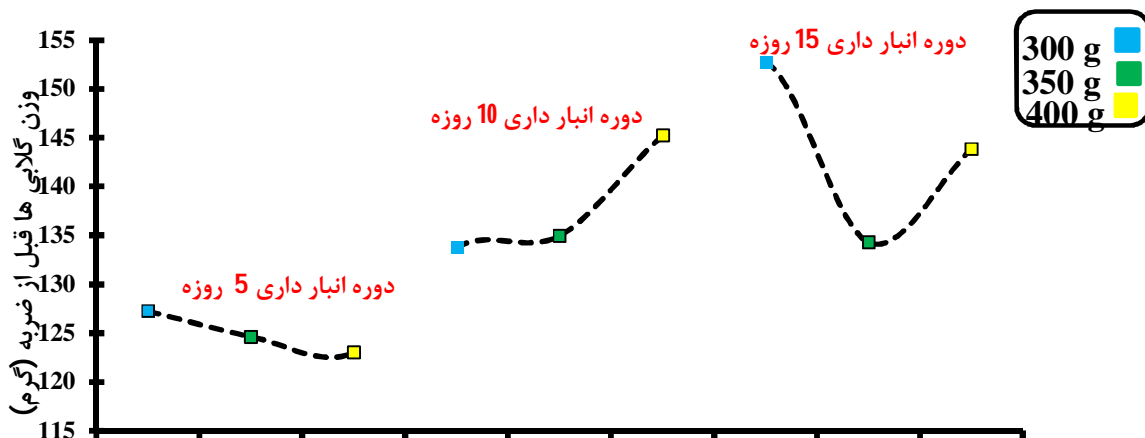
شکل 7- تاثیر درصد کاهش حجم بر میزان پوسیدگی

برای دو وزنه دیگر معنی‌دار نشده است. همانطور که در شکل 7 نیز مشاهده می‌شود با افزایش درصد کاهش حجم گلابی‌ها در دوره 15 روزه میزان درصد پوسیدگی افزایش یافته است. با افزایش میزان وزن وزنه‌ها، درصد آسیب‌های درونی به میوه گلابی افزایش یافته است و همین افزایش آسیب‌های درونی سبب انجام فعالیت‌های درونی میوه می‌گردد که همین امر سبب کاهش میزان حجم گلابی شده و این کاهش حجم نسبت به حجم اولیه نشان‌دهنده آسیب‌های درونی بیشتر می‌گردد که در طی انبارداری این کاهش به وضوح مشاهده می‌شود. نتایج به‌دست آمده مشابه نتایج شفيعی و همکاران (2015) بر روی انار بوده است

وزنه 400 گرمی: با توجه به شکل 7 بیشترین میزان درصد کاهش حجم گلابی 51/33% در دوره انبارداری 5 روزه و کمترین مقدار در 41/76% در دوره انبارداری 10 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 قطر هندسی، قطر معادل، قطر حسابی، سطح رویه همبستگی مثبت و معنی‌داری درصد کاهش حجم گلابی داشته است. با توجه به نتایج به‌دست آمده از همبستگی (جدول 2) درصد کاهش حجم گلابی با میزان درصد پوسیدگی برای هر سه وزنه همبستگی مثبت را داشته است و این همبستگی مثبت نشان‌دهنده این است که درصد کاهش حجم گلابی با درصد پوسیدگی رابطه مستقیم دارد. همچنین میزان همبستگی برای وزنه 350 گرمی معنی‌دار شده است و

وزنه 300 گرمی: با توجه به شکل 8 بیشترین میزان وزن گلابی‌ها قبل از ضربه 151/65 g در دوره انبارداری 15 روز و کمترین مقدار در 127/28 g در دوره انبارداری 5 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 درصد کاهش حجم و درصد کاهش وزن یک همبستگی مثبت و معنی‌داری با وزن گلابی‌ها قبل از ضربه معنی‌دار داشته است.

تاثیر وزن گلابی قبل از ضربه بر میزان پوسیدگی
با توجه جدول 1 وزن گلابی قبل از ضربه در دوره‌های انبارداری در سطح 1 درصد معنی‌دار شده است و برای وزنه ضربه و اثر متقابل معنی‌دار نشده است.



شکل 8- تاثیر وزن گلابی قبل از ضربه بر میزان پوسیدگی

وزنه 400 گرمی: با توجه به شکل 8 بیشترین میزان حجم گلابی‌ها قبل از ضربه 143/87 g در دوره انبارداری 15 روزه و کمترین مقدار در 123/03 g در دوره انبارداری 5 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 هیچ کدام یک از پارامترها با وزن گلابی‌ها قبل از ضربه معنی‌دار نشده است.

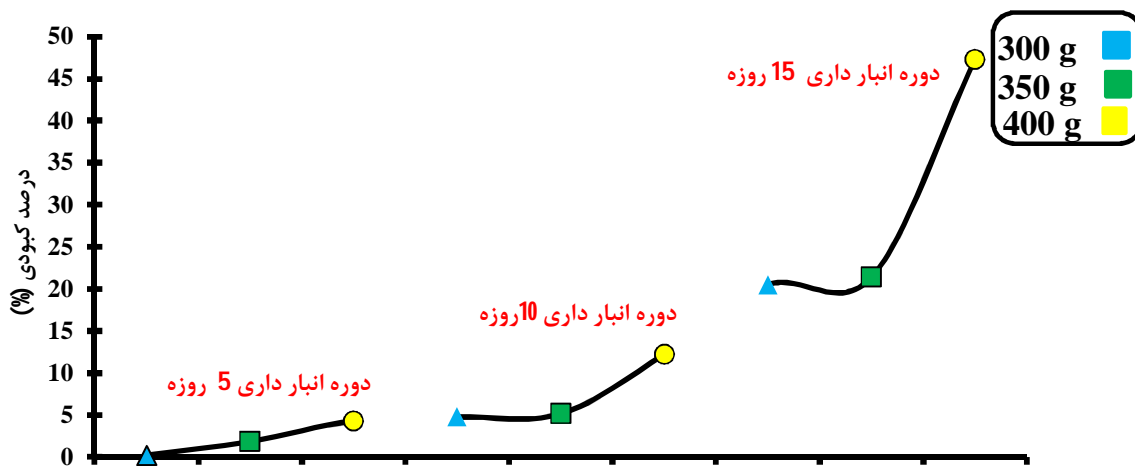
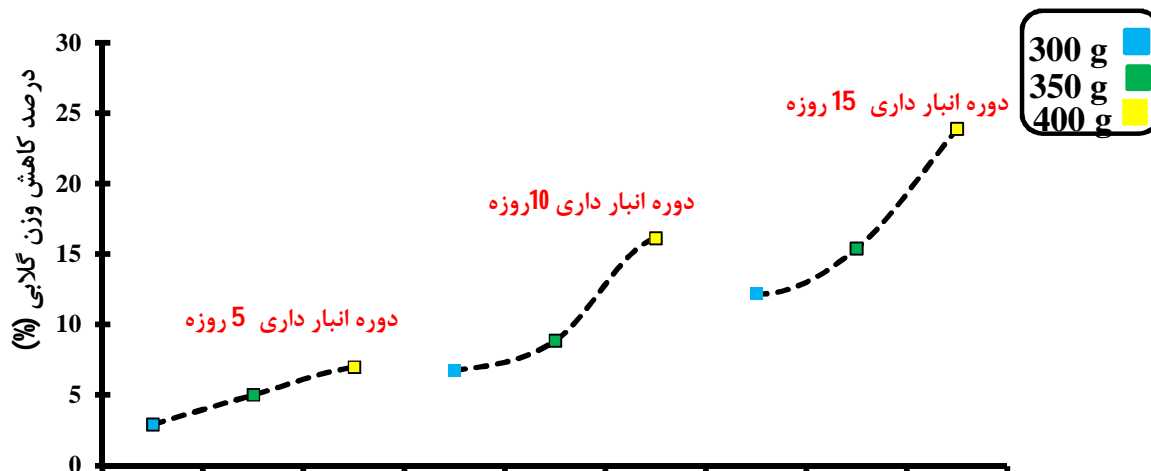
وزنه 350 گرمی: با توجه به شکل 8 بیشترین میزان وزن گلابی‌ها قبل از ضربه 134/9 g در دوره انبارداری 10 روزه و کمترین مقدار در 124/67 g در دوره انبارداری 5 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 هیچ کدام یک از پارامترها با وزن گلابی‌ها قبل از ضربه معنی‌دار نشده است.

طی مدت انبارداری کاهش یابد و هرچه وزن گلابی بیشتر باشد نیز میزان آب بیشتری درون بافت میوه قرار دارد و در طی انبارداری میزان آب بیشتری از بافت آن خارج می‌شود که همین امر سبب کاهش میزان وزن گلابی‌ها شده است

تاثیر درصد کاهش وزن گلابی بر میزان پوسیدگی

با توجه جدول 1 درصد کاهش وزن گلابی در دوره‌های انبارداری و وزنه ضربه در سطح 1 درصد معنی‌دار شده است و اثر متقابل آنها در سطح 5 درصد معنی‌دار شده است.

با توجه به نتایج به دست آمده از همبستگی (جدول 2) وزن گلابی‌ها قبل از ضربه با میزان درصد پوسیدگی برای هر سه وزنه همبستگی مثبت و غیرمعنی‌داری را داشته است و این همبستگی مثبت نشان‌دهنده این است که وزن گلابی قبل از ضربه با درصد پوسیدگی رابطه مستقیم دارد. در شکل 8 رابطه بین درصد پوسیدگی و میزان وزن گلابی‌ها قبل از ضربه نشان داده شده است. دلیل این امر را می‌توان اینگونه بیان کرد که با وجود ضربه به گلابی فعالیت‌های آنزیمی درونی درون میوه گلابی افزایش می‌یابد و همچنین در طی مدت انبارداری نیز میزان آب در درون بافت گلابی خارج شده و سبب می‌شود که میزان وزن گلابی در



شکل 9- تاثیر درصد کاهش وزن گلابی بر میزان پوسیدگی

پوسیدگی افزایش یافته که این امر سبب تغییر بافت میوه شده یعنی بافت میوه نسبت به حالت قبل سبکتر شده است که به همین دلیل وزن محصول گلابی کاهش یافته است. نتایج به دست آمده مشابه نتایج Abiso و همکاران (2016) بر روی انبارداری گوجه‌فرنگی گزارش کردند که میزان کاهش وزن با افزایش دوره انبارداری افزایش یافته است (Abiso et al., 2015).

نتیجه‌گیری

– با توجه به نتایج به دست آمده در بارگذاری دینامیکی یک رابطه غیرمستقیم بین حجم قبل از بارگذاری و درصد کبودی وجود داشته است و هرچه میزان حجم اولیه گلابی‌ها کمتر باشد میزان درصد کبودی نیز افزایش پیدا کرده است.

– در بارگذاری دینامیکی درصد کاهش حجم یک رابطه مستقیم با حجم قبل از بارگذاری داشته است. در واقع درصد کاهش تابعی از حجم اولیه گلابی بوده است.

– دوره انبارداری 5 روزه وزنه 300 گرمی تاثیر چشم‌گیری را بر درصد پوسیدگی نداشته است در واقع می‌توان این گونه بیان کرد که در این دوره میزان حجم و وزن گلابی‌ها تاثیر بر میزان کبودی نداشته است. و باید در دوره‌های 7 الی 10 روزه میزان تاثیر حجم و وزن قبل از ضربه بر میزان درصد کبودی را مقایسه کرد.

– وزن گلابی‌ها قبل از ضربه و درصد کاهش وزن با میزان درصد پوسیدگی یک رابطه مثبت را داشته است. با افزایش میزان وزن گلابی مقدار درصد پوسیدگی نیز افزایش یافته است. در واقع با افزایش دوره انبارداری میزان درصد کاهش وزن گلابی‌ها افزایش یافته است و در یک دوره انبارداری ثابت نیز با افزایش میزان وزن وزنه‌ها میزان درصد پوسیدگی نیز افزایش یافته است.

وزنه 300 گرمی: با توجه به شکل 9 بیشترین میزان درصد کاهش وزن 12/21% در دوره انبارداری 15 روزه و کمترین مقدار در 2/96% در دوره انبارداری 5 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 درصد کاهش حجم و درصد کاهش وزن یک همبستگی مثبت و معنی‌داری با درصد کاهش وزن گلابی معنی‌دار داشته است.

وزنه 350 گرمی: با توجه به شکل 9 بیشترین میزان درصد کاهش وزن 14/25% در دوره انبارداری 10 روزه و کمترین مقدار در 9/80% در دوره انبارداری 5 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 درصد کاهش حجم یک همبستگی مثبت و معنی‌داری با درصد کاهش وزن گلابی معنی‌دار داشته است.

وزنه 400 گرمی: با توجه به شکل 9 بیشترین میزان درصد کاهش وزن 23/80% در دوره انبارداری 15 روزه و کمترین مقدار در 6/95% در دوره انبارداری 5 روزه مشاهده شده است. همچنین با توجه به جدول 2 هیچ کدام یک از پارامترها با درصد کاهش وزن گلابی معنی‌دار نشده است.

با توجه به نتایج به دست آمده از همبستگی (جدول 2) درصد کاهش وزن گلابی با درصد پوسیدگی برای هر سه وزنه همبستگی مثبت داشته است و برای وزنه‌های 350 و 400 گرم این همبستگی معنی‌دار و برای وزنه 300 گرمی این همبستگی معنی‌دار نشده است و این همبستگی مثبت نشان‌دهنده این است که درصد کاهش وزن با درصد پوسیدگی رابطه مستقیم دارد. در شکل 9 رابطه بین درصد پوسیدگی و میزان درصد کاهش وزن گلابی نشان داده شده است. دلیل این امر را می‌توان اینگونه توجیه کرد که با افزایش میزان کبودی در میوه گلابی میزان رطوبت (محتویات آبی) درون گلابی خارج شده و محصول به سمت خشک تر شدن می‌رود و همچنین با افزایش زمان انبارداری هم میزان

منابع

- Abedi, G., and E. Ahmadi. 2013. Design and Evaluation a Pendulum Device to Study Postharvest Mechanical Damage in Fruits : Bruise Modeling of Red Delicious Apple. *Australian Journal of Crop Science* 7, no. 7: 962–968.
- Abera, M.K., P. Verboven, E. Herremans, T. Defraeye, S.W. Fanta, Q.T. Ho, J. Carmeliet, and B.M. Nicolai. 2014. 3D Virtual Pome Fruit Tissue Generation Based on Cell Growth Modeling. *Food and Bioprocess Technology* 7, no. 2 (February 25): 542–555.
- Abiso, E., N. Atheesh*, and H. Addisalem. 2015. Effect of storage methods and ripening stages on postharvest quality of tomato (*lycopersicom esculentum* mill) CV. Chali effect of storage methods and ripening stages on postharvest Tomato (*Lycopersicom Esculentum* L.) Is Botanically Classified as a Fr. *Annals. Food Science and Technology* 16, no. 1: 127–137.
- Ahmadi, E., H.R. Ghassemzadeh, M. Sadeghi, M. Moghaddam, and S.Z. Neshat. 2010. The Effect of Impact and Fruit Properties on the Bruising of Peach. *Journal of Food Engineering* 97, no. 1: 110–117.
- Azadbakht, M., H. Aghili, A. Ziaratban, and M. Vehedi Torshizi. 2017. Application of Artificial Neural Network (ANN) in Drying Kinetics Analysis for Potato Cubes. *Carpathian Journal Of Food Science And Technology* 17, no. 4: 167–180.
- Babic, L., S. Matic-Kekic, N. Dedovic, M. Babic, and I. Pavkov. 2012. Surface Area and Volume Modeling of the Williams Pear (*Pyrus Communis*). *International Journal of Food Properties* 15, no. 4: 880–890.

- Brusewitz, G.H., and J.A. Bartsch. 1989. Impact Parameters Related to Post Harvest Bruising of Apples. *Transactions of the ASAE* 32, no. 3: 953.
- Brusewitz, G.H., T.G. McCollum, and X. Zhang. 1991. Impact Bruise Resistance of Peaches. *Transactions of the ASAE* 34, no. 3: 962–965.
- Diels, E., M. van Dael, J. Keresztes, S. Vanmaercke, P. Verboven, B. Nicolai, W. Saeys, H. Ramon, and B. Smeets. 2017. Assessment of Bruise Volumes in Apples Using X-Ray Computed Tomography. *Postharvest Biology and Technology* 128: 24–32.
- Ganiron, T.U. 2014. Size Properties of Mangoes Using Image Analysis. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology* 6, no. 2: 31–42.
- Hazbavi, E., M.H. Khoshtaghaza, A. Mostaan, and A. Banakar. 2015. Effect of Storage Duration on Some Physical Properties of Date Palm (Cv. Stamaran). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 14, no. 2: 140–146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2013.10.001>.
- Idah, P.A., E.S.A. Ajisegiri, and M.G. Yisa. 2007. An Assessment of Impact Damage to Fresh Tomato Fruits. *AU Journal of Technology* 10, no. 4: 271–275.
- Kabas, O. 2010. Methods of Measuring Bruise Volume of Pear (*Pyrus Communis* L.). *International Journal of Food Properties* 13, no. 5: 1178–1186.
- Kotwaliwale, N., P.R. Weckler, G.H. Brusewitz, G.A. Kranzler, and N.O. Maness. 2007. Non-Destructive Quality Determination of Pecans Using Soft X-Rays. *Postharvest Biology and Technology* 45, no. 3: 372–380.
- Mohammad Shafie, M., A. Rajabipour, S. Castro-García, F. Jiménez-Jiménez, and H. Mobli. 2015. Effect of Fruit Properties on Pomegranate Bruising. *International Journal of Food Properties* 18, no. 8: 1837–1846.
- Opara, U.L., and P.B. Pathare. 2014. Bruise Damage Measurement and Analysis of Fresh Horticultural Produce-A Review. *Postharvest Biology and Technology* 91: 9–24.
- Pathare, P.B., U.L. Opara, C. Vigneault, M.A. Delele, and F.A.J. Al-Said. 2012. Design of Packaging Vents for Cooling Fresh Horticultural Produce. *Food and Bioprocess Technology* 5, no. 6: 2031–2045.
- Peleg, K., and S. Hinga. 1986. Simulation of Vibration Damage in Produce Transportation. *Transactions of the ASAE* 29, no. 2: 633–641.
- Sabzi, S., P. Javadikia, H. Rabani, and A. Adelkhani. 2013. Mass Modeling of Bam Orange with ANFIS and SPSS Methods for Using in Machine Vision. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation* 46, no. 9: 3333–3341. <http://dx.doi.org/10.1016/j.measurement.2013.06.005>.
- Shahbazi, F., and S. Rahmati. 2013. Mass Modeling of Sweet Cherry (*Prunus Avium* L) Fruit with Some Physical Characteristics. *Food and Nutrition Sciences* 4, no. January: 1–5.
- Soltani, M., R. Alimardani, and M. Omid. 2011. Modeling the Main Physical Properties of Banana Fruit Based on Geometrical Attributes. *International Journal of Multidisciplinary Sciences and Engineering* 2, no. 2: 1–6. www.ijmse.org.
- Stropek, Z., and K. Gołacki. 2015. A New Method for Measuring Impact Related Bruises in Fruits. *Postharvest Biology and Technology* 110: 131–139.
- Zarifneshat, S., A. Rohani, H.R. Ghassemzadeh, M. Sadeghi, E. Ahmadi, and M. Zarifneshat. 2012. Predictions of Apple Bruise Volume Using Artificial Neural Network. *Computers and Electronics in Agriculture* 82: 75–86.

Determination of the relationship between volume and weight of pear fruit with bruise due to impact load loading using non-destructive CT scan

M. Azadbakht^{1*}, M. J. Mahmoodi², M. Vahedi Torshizi²

Received: 2018.04.27

Accepted: 2018.12.30

Introduction: The study of relationship between physical properties such as mass and volume and other physical properties, such as geometric dimensions, has been the subject of numerous studies by researchers. The fruit size, shape and mass are important in sorting and measuring fruits, and it determines that the fruits can be put in boxes of transport or plastic bags by a specific size. Damage to the fruit may be due to various causes, including Impact, pressure and vibration, all of which cause physical damage at moment or at storage time, the amount of damages depends on location of impact, the size and volume. Also, the volume and physical properties of agricultural products are very important for storage. On the other hand, cell damage and forces involved in fruits reason bruising in fruits, which can be controlled by physical properties. Quality assessment is usually carried out using a combination of destructive and non-destructive methods, generally done by the product manufacturers or the first purchasers, and includes the separation of materials based on specific size and weight. Among non-destructive methods used, the use of CT and X-rays, which allow a person to examine bruises at different times in the fruit, is increasing. Due to the fact that mass and volume of fruits for storage, transportation, packaging and etc are of great importance, in this research, the relationship between pear fruit volume and mass with bruise percentage during the storage period was studied using non-destructive CT scan tests due to dynamic loads.

Materials and methods: Firstly, the pendulum and the required masses were made in a workshop. The fruits were placed in the desired position and then the device arm was raised to the desired angle (90°), and in the controlled state of the arm impact the pear. The pendulum had a 200 g and three different attachment masses of 100, 150, and 200 g for knocking. It should be noted that air resistance and friction were neglected through this procedure. In this research, via CT scan, the relationship between mass and volume of pears (Before and after the impact) due impact loading and storage times with bruise was investigated. Before loading and storing, 50 pears were examined using Scan CT and 27 pears with zero bruise percentage were selected, the next chosen pears were subjected to impact loading with a pendulum with three weight of 300, 350 and 400 g and 5, 10 and 15 days storage was used to investigate the effect of impact on pears. Then, after impact and storing, with the use of CT scan in each period of storage, the rate of pear bruise was calculated.

Results and Discussion: The pears volume before impact with the bruise percentage for all three weights had a negative and non-significant correlation and the decrease pear mass percentage with the bruise percentage for all three weights has a positive correlation and pears mass before impact with the bruise percentage for all three weights had a positive and non-significant correlation. Any decrease in pear mass percentage had a positive correlation with caries percentage for all three weights. The correlation test showed that with the increase in pear volume, the bruise percentage was decreased and a direct correlation was found between the decreasing percentage volume and the bruise percentage. –also The effect of 5-day storage duration was found considerable on the bruise percentage subject to the exertion of 350 g and higher impact rates

Keywords: Pear, CT scan, Non-destructive, bruise, volume

1 and 2 Associate Professor, MSC. Student of Department of Bio-System Mechanical Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Respectively, Gorgan, Iran,.

(* Correspondence Author Email: azadbakht@gau.ac.ir)

بهینه‌سازی خشک کردن خلال‌های سیب‌زمینی با استفاده از پیش‌ تیمار اُسمزی و روش سطح

پاسخ

ناهید جعفری¹ - سید حمیدرضا ضیاءالحق^{2*} - عبدالرضا محمدی نافچی³

تاریخ دریافت: 1397/02/06

تاریخ پذیرش: 1397/10/09

چکیده

در این تحقیق، تأثیر پیش‌ تیمار اُسمزی بر ویژگی‌های کیفی و خصوصیات حسی خلال‌های سیب‌زمینی خشک‌شده مورد بررسی قرار گرفت. محتوای رطوبت، ظرفیت بازجذب آب، چروکیدگی، قهوه‌ای شدن، شاخص‌های رنگی و خصوصیات حسی (طعم، رنگ، شکل‌ظاهری، استحکام و پذیرش کلی) نمونه‌های سیب‌زمینی پس از فرآیند خشک‌کردن ارزیابی شده و از روش سطح‌پاسخ (RSM) جهت تعیین شرایط بهینه پیش‌ تیمارهای آبیگری اُسمزی، با هدف بالاترین امتیازات خواص فیزیکی‌وشیمیایی و حسی، استفاده شد. نتایج نشان داد که با افزایش زمان پیش‌ تیمار اُسمزی، محتوای رطوبت، قهوه‌ای شدن و امتیاز طعم به تدریج افزایش یافت، در حالی که بازجذب آب کاهش پیدا کرد ($p < 0.05$). زمان پیش‌ تیمار اُسمزی اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رنگی نمونه‌های سیب‌زمینی نداشت ($p > 0.05$). با افزایش غلظت محلول اُسمزی، میزان رطوبت، چروکیدگی، بازجذب آب، قهوه‌ای شدن و شاخص زردی (b^*) کاهش یافت ($p < 0.05$). با افزایش دمای محلول اُسمزی میزان چروکیدگی، روشنایی و امتیاز طعم نمونه‌ها افزایش و میزان قرمزی و تغییر رنگ کلی خلال‌های سیب‌زمینی کاهش یافت ($p < 0.05$). نتایج ارزیابی حسی نشان داد که تغییرات غلظت، زمان و درجه‌حرارت محلول اُسمزی، به جز در مورد امتیاز طعم، اثر معنی‌داری بر خصوصیات حسی خلال‌های سیب‌زمینی نداشت ($p > 0.05$). بر طبق نتایج حاصل از بهینه‌سازی توسط روش سطح‌پاسخ می‌توان، غلظت 2 درصد، دمای 46 درجه سانتی‌گراد و زمان 173 دقیقه را برای پیش‌ تیمار اُسمزی به‌عنوان شرایط مطلوب معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: پیش‌ تیمار اُسمزی، خشک‌کردن، فرآورده‌های سیب‌زمینی، روش سطح پاسخ

مقدمه

آبیگری اُسمزی، موادغذایی در یک محلول نمکی یا قندی غوطه‌ور می‌شوند (Pandharipande et al, 2012).
تبادلات جرمی بین محلول اُسمزی و ماده‌غذایی بازده نهایی و کیفیت محصول آبیگری‌شده را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Shi, 2008).
آبیگری اُسمزی یک فرآیند نسبتاً ساده و اقتصادی است که موجب بهبود بافت و خصوصیت جذب مجدد آب می‌شود و با جلوگیری از فعالیت پلی‌فنل‌اکسیدازها از قهوه‌ای شدن آنزیمی جلوگیری می‌کند. در این فرآیند، اسید حذف شده و قند جذب می‌گردد، در نتیجه ترکیب میوه‌ها اصلاح شده و مزه و قابلیت‌پذیرش بهبود می‌یابد. این فرآیند از متلاشی‌شدن ساختار محصول طی خشک‌کردن بعدی جلوگیری کرده و به حفظ شکل محصولات خشک‌شده کمک می‌نماید (Chavan and Amarowicz, 2012). از روش آبیگری اُسمزی برای خشک کردن محصولات مختلف مثل هویج (Singh et al., 2006)، انبه

سیب‌زمینی چهارمین محصول کشاورزی مهم، بعد از برنج، گندم و ذرت است. سیب‌زمینی در مقایسه با سایر غلات، در هر واحد سطح خود، وزن خشک، پروتئین و مواد معدنی بیشتری تولید می‌نماید. همچنین سیب‌زمینی منبعی غنی برای نشاسته است (Friedman, 1997). بسیاری از ترکیبات موجود در سیب‌زمینی دارای اثرات مفیدی بر سلامت هستند. از این رو، این محصول گیاهی برای مصرف در رژیم غذایی انسان بسیار مناسب می‌باشد (Katan and De Roos, 2004).
آبیگری اُسمزی برای حذف بخشی از آب موادغذایی مانند میوه‌ها و سبزیجات، از طریق غوطه‌وری در محلول‌های آبی دارای فشار اُسمزی بالا مانند قندها و نمک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در

3- دانشیار، گروه مهندسی شیمی و مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.

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

DOI: 10.22067/iftstrj.v15i2.72319

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

2- استادیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شاهرود)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شاهرود، ایران.

مواد و روش‌ها

رقم سیب‌زمینی مورد استفاده در این پژوهش آگریا بود که از بازار محلی تهیه گردید و بلافاصله برای تولید نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. کلرید سدیم از شرکت تابا و روغن مورد استفاده برای سرخ کردن سیب‌زمینی‌ها از نوع روغن مخصوص سرخ کردنی تهیه شد. مواد شیمیایی مورد استفاده برای آزمون‌ها (اسید استیک و فرم‌آلدئید) نیز از شرکت دایجونگ کره خریداری شدند.

سیب‌زمینی‌های رقم آگریا پس از شستشوی کامل، پوست کنده شده و با استفاده از دستگاه خلال‌کن خانگی نوع دایسر - مایسر به قطعاتی با اندازه $3/5 \times 0/5 \times 0/5$ سانتی‌متر برش داده شدند. تیمارهای مورد استفاده در این پژوهش شامل پارامترهای غلظت محلول اسمزی (در سه سطح صفر، 10 و 20 درصد کلرید سدیم)، دمای محلول اسمزی (در سه سطح 30، 45 و 60 درجه سانتی‌گراد) و زمان غوطه‌وری در محلول اسمزی (در سه سطح 60، 240 و 720 دقیقه) بودند. مقدار حداقل و حداکثر سطوح تیمارهای مختلف با توجه به آزمایشات اولیه و بررسی منابع انتخاب شدند (محمدی و محمدپور، 1395؛ سلیمانی و همکاران، 1390؛ Changrue و همکاران، 2006؛ Kumar و Gani، 2013). نسبت قطعات سیب‌زمینی به محلول اسمزی در کل آزمایش‌ها 1 به 6 ثابت بود. مقدار حداقل و حداکثر غلظت و زمان غوطه‌وری به نرم‌افزار Design Expert 8.0.7.1 داده شده و بر اساس آن، تعداد 20 نمونه با 6 تکرار در نقطه مرکزی به شرح جدول 1 به دست آمد. پس از اعمال پیش تیمار اسمزی، نمونه‌ها در داخل آون (شیمازو، ژاپن) با دمای 60 درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان هوای $1/5$ m/s تا رسیدن به رطوبت بین 8 تا 10 درصد خشک شدند (Fernandez و همکاران، 2006) و تا زمان انجام آزمایشات (حدود دو هفته) در پاکت‌های از جنس BOPP¹ بسته‌بندی شده و در دمای محیط نگهداری شدند.

آزمون‌ها

محتوای رطوبت

جهت اندازه‌گیری رطوبت نهایی نمونه‌های سیب‌زمینی خشک شده، حدود 5 گرم از نمونه‌ها توسط ترازوی دیجیتال (Sartorius) با دقت $0/001$ وزن شده و در آون (شیمازو، ژاپن) با دمای 100 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. هر نیم ساعت یکبار، نمونه‌ها از آون خارج شده و پس از سرد شدن در دسیکاتور، توزین شده و مجدداً در آون قرار داده شدند. این کار تا زمانی انجام گرفت، که وزن نمونه‌ها در دو توزین متوالی یکسان باقی ماند. محتوای رطوبت نمونه‌های سیب‌زمینی، بر حسب درصد، از طریق رابطه 1 محاسبه گردید (AOAC, 1995).

(Ananas (Tiwari and Jalali, 2004; Alakali et al., 2006)، آناناس (Piotrowski et al., 2004)، توت فرنگی (Rahman and Lamb, 1990)، موز (Pandharipande et al., 2012)، سیب (Matuszek et al., 2008)، زردآلو (Ispir and Togrul, 2009) و بسیاری از میوه‌های دیگر استفاده شده است.

سلیمانی و همکاران (1390)، از پیش تیمار آبیگری اسمزی برای خشک کردن هویج با هوای گرم استفاده نمودند. برای تعیین شرایط بهینه آبیگری اسمزی، تاثیر عوامل دما، زمان، تغییرات غلظت محلول، میزان کلرید سدیم و شربت گلوکز ورودی به داخل بافت هویج مورد بررسی قرار گرفت. عمل اسمزی در دمای 40 درجه سانتی‌گراد به مدت 240 دقیقه، بهترین نتیجه را از نظر میزان آبیگری و مواد جامد محلول نشان داد. نتایج نشان داد که غلظت 50 درصد شربت گلوکز به علاوه غلظت 5 درصد نمک طعام بهترین غلظت از لحاظ آبیگری و میزان ماده ورودی به بافت می‌باشد. محمدی و محمدپور (1395) جهت خشک کردن اسمزی سیب‌زمینی از محلول کلرید سدیم 15 درصد و مخلوط 10 وزنی نمک و 35 درصد وزنی شکر در سه دمای 35، 45 و 55 درجه سانتی‌گراد استفاده کردند و نشان دادند که با افزایش دما میزان از دست دادن آب افزایش می‌یابد، ضمن این که برای محلول شکر - نمک میزان از دست دادن آب بیشتر از محلول حاوی نمک به تنهایی بود. آن‌ها دمای مناسب برای محلول اسمزی را دمای 45 درجه سانتی‌گراد و زمان مناسب را در محدوده 100 تا 120 دقیقه معرفی کردند.

Wang و همکاران (2010) اثر خشک کردن اسمزی بر کیفیت چیپس سیب‌زمینی خشک شده با مایکروویو را بررسی کردند. آن‌ها از غلظت‌های 5، 10 و 15 درصد نمک طعام و 30، 40 و 50 درصد ساکارز در دمای 20 درجه سانتی‌گراد به مدت 6 ساعت استفاده کردند و نشان دادند که کیفیت چیپس‌های پیش تیمار شده با غلظت 5 درصد نمک طعام بهبود می‌یابد.

به دلیل مزیت‌های گفته شده در استفاده از روش آبیگری اسمزی، در این تحقیق ما بر آن شدیم که کیفیت خلال‌های خشک سیب‌زمینی با کمک پیش تیمار اسمزی را مورد بررسی قرار دهیم. در تحقیقات قبلی از فرآیند اسمز برای تولید فرآورده‌های نیمه خشک سیب‌زمینی استفاده شده است؛ در حالی که هدف از انجام تحقیق جاری، بررسی اثر فرآیند اسمزی به‌عنوان یک پیش تیمار قبل از خشک شدن با هوای داغ، در بهبود بافت و کیفیت با جذب آب، و همچنین بهبود طعم و رنگ خلال‌های سیب‌زمینی پس از خشک شدن با جریان هوای داغ می‌باشد.

b^* تشکیل شده است. مولفه L^* معادل روشنایی تصویر است که بین صفر معادل مشکی و 100 معادل انعکاس کامل نور تغییر می‌کند. مولفه a^* بین 120- تا 120 تغییر می‌کند و مقادیر مثبت معادل رنگ قرمز و مقادیر منفی معادل رنگ سبز است. مقادیر b^* بین 120- تا 120 تغییر می‌کند و مقادیر مثبت معادل رنگ زرد و مقادیر منفی معادل رنگ آبی است (Tkalcic & Tasic, 2006). با استفاده از پلاگین color space converter تحت نرم‌افزار ImageJ نسخه 1/04، تصاویر از فضای رنگی RGB به $L^*a^*b^*$ تبدیل گردید. پس از تبدیل تصویر به فضای رنگی $L^*a^*b^*$ ، با انتخاب محدوده مربوط به تصویر سیب‌زمینی، محاسبه و میانگین برای هر مولفه صورت گرفت. برای محاسبه میانگین تغییرات رنگ (E) در طی فرآیند خشک‌کردن، از رابطه 4 استفاده شد (Fathi et al., 2011).

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad (4)$$

ارزیابی حسی

جهت ارزیابی حسی، نمونه‌های سیب‌زمینی پس از بازجذب آب در روغن داغ به مدت تقریبی 5 دقیقه تا طلایی شدن رنگ سیب‌زمینی‌ها سرخ شدند. ارزیابی حسی نمونه‌های سیب‌زمینی خشک‌شده، با استفاده از سیستم هدونیک پنج نقطه‌ای صورت گرفت. بدین منظور از 15 ارزیاب حسی آموزش ندیده شامل 5 زن و 10 مرد با میانگین سنی بین 25 تا 35 سال استفاده شد و از آن‌ها خواسته شد تا نمونه‌ها را از بسیار بد (1) تا بسیار خوب (5) ارزیابی کنند و بر این اساس به آن‌ها امتیاز دهند. ویژگی‌های حسی مورد بررسی در این تحقیق، شامل رنگ، شکل ظاهری، سفتی، طعم و پذیرش کلی بودند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نتایج حاصل از هر دو مرحله اول و دوم با استفاده از طرح آماری فاکتوریل کامل در قالب طرح مرکب مرکزی (CCD) در روش سطح پاسخ آنالیز شدند. سپس عمل بهینه‌سازی با استفاده از نرم‌افزار Design expert 8.0.7.1 برای هر مرحله انجام شد. در این طرح مقادیر منفی و مثبت آلفا (-1 و +1) برای غلظت محلول اسمزی به ترتیب صفر و 20 درصد، برای زمان غوطه‌وری 60 و 420 دقیقه و برای دمای محلول اسمزی 30 و 60 درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

نتایج و بحث

محتوای رطوبت

نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که زمان آبیگری اسمزی و تغییرات غلظت محلول اسمزی، از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر محتوای رطوبت خلال‌های سیب‌زمینی داشتند ($p < 0.05$)، ولی تأثیر دما از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$).

$$(1) \quad \text{درصد رطوبت} = \frac{M1 - M2}{M0} * 100$$

که در آن $M1$ ، وزن ظرف و نمونه قبل از خشک‌کردن (بر حسب گرم)، $M2$ ، وزن ظرف و نمونه بعد از خشک‌کردن (بر حسب گرم) و $M0$ ، وزن نمونه اولیه (بر حسب گرم) می‌باشند.

میزان بازجذب آب

برای اندازه‌گیری میزان درصد جذب آب، 4 تا 5 گرم از نمونه برداشته شده و در داخل آب مقطر به یک نسبت 5 تا 10 برابر، ریخته شد. هر نیم ساعت یکبار، نمونه‌ها خارج شده و با کاغذ جذب، آب آن‌ها گرفته شد و توزین گردید، تا زمانی که به وزن ثابت رسید. میزان بازجذب آب نمونه‌ها، با استفاده از رابطه 2 محاسبه شده و بر حسب درصد بیان گردید (Raoult-wack, 1994).

$$(2)$$

$$100 * \frac{\text{وزن خشک نمونه بعد از اسمز} - \text{وزن نمونه بعد از آبیگری}}{\text{وزن نمونه بعد از آبیگری}} = \text{میزان مجدد آبیگری}$$

میزان چروکیدگی

برای تعیین میزان چروکیدگی از تغییر حجم استفاده شد. به این صورت که از هر نمونه 4 تا 5 خلال داخل استوانه مدرج حاوی مقدار مشخصی تولوئن قرار داده شده و با توجه به تغییر حجم ایجاد شده، حجم خلال‌ها تعیین گردید. سپس با استفاده از رابطه 3، درصد چروکیدگی محاسبه شد (Shakouri et al., 2015):

$$(3) \quad Sh (\%) = \left(1 - \frac{Vt}{V0}\right) * 100$$

که در آن Sh ، چروکیدگی بر حسب درصد، Vt ، حجم در پایان فرآیند خشک‌کردن بر حسب سانتی‌متر مکعب و $V0$ ، حجم اولیه نمونه بر حسب سانتی‌متر مکعب می‌باشند.

قهوه‌ای شدن بافت

جهت اندازه‌گیری میزان قهوه‌ای شدن، ابتدا 2/5 گرم از نمونه با 25 میلی لیتر محلول آبی اسیداستیک - فرم‌آلدئید (نسبت حجمی 2 به 1) مخلوط شده و به مدت 72 ساعت نگهداری گردید، تا رنگ آن‌ها استخراج شود. سپس میزان جذب نمونه‌های با استفاده از اسپکتروفتومتر (Jenway 6305) در طول موج 420 و 600 نانومتر اندازه‌گیری شد و اختلاف جذب در این دو طول موج، به عنوان شاخص قهوه‌ای شدن در نظر گرفته شد (Ziaolhagh, 1999).

تعیین شاخص‌های رنگی

تصویرگیری از نمونه‌های سیب‌زمینی پس از مرحله خشک‌کردن نهایی، با استفاده از اسکنر سطح (HP Scanjet 4010) انجام شد و تصاویر گرفته شده در فرمت JPEG و رزولوشن 200 dpi بدون فشرده‌گی ذخیره شدند. فضای رنگی $L^*a^*b^*$ از سه مولفه L^* ، a^* و

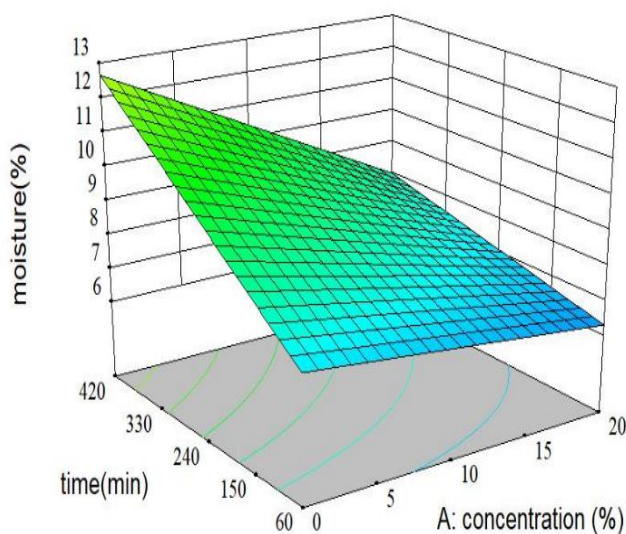
تحقیق جاری اثر متقابل غلظت و زمان مورد بررسی قرار گرفته و نشان داده شده است که غلظت محلول اسمزی می‌تواند بر میزان از دست دادن رطوبت محصول در طی زمان غوطه‌وری در محلول اسمزی تأثیر داشته باشد.

با کاهش غلظت محلول اسمزی به مرور میزان خروج آب از محصول به درون محلول اسمزی نسبت به غلظت‌های بالاتر محلول اسمزی کاهش می‌یابد و محصول پس از پیش تیمار اسمزی که برای خشک کردن استفاده می‌شود مقدار رطوبت بیشتری داشته و لذا محتوای رطوبت محصول خشک نهایی نیز بیشتر می‌باشد (Torres *et al*, 2012).

تأثیر متغیرهای مستقل (غلظت و زمان غوطه‌وری) بر محتوای رطوبت نمونه‌های سیب‌زمینی در شکل 1 نشان داده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌شود، با افزایش زمان آبیگری و کاهش غلظت محلول اسمزی، محتوای رطوبت نمونه‌های سیب‌زمینی خشک شده افزایش یافت، با این حال تأثیر زمان بر سرعت افزایش محتوای رطوبت، بیشتر از غلظت بود. محمدی و محمدپور (1395) بر خلاف نتایج ما نشان دادند که با افزایش زمان آبیگری اسمزی میزان از دست رفتن آب از سیب‌زمینی افزایش می‌یابد. این اختلاف به این علت است که آن‌ها در بررسی خود از مخلوط ساکارز و نمک استفاده کرده و اثر مستقل زمان بر میزان از دست دادن آب را بررسی کرده اند؛ در حالی که در

جدول 1- تیمارهای مورد بررسی و پاسخ‌های به دست آمده

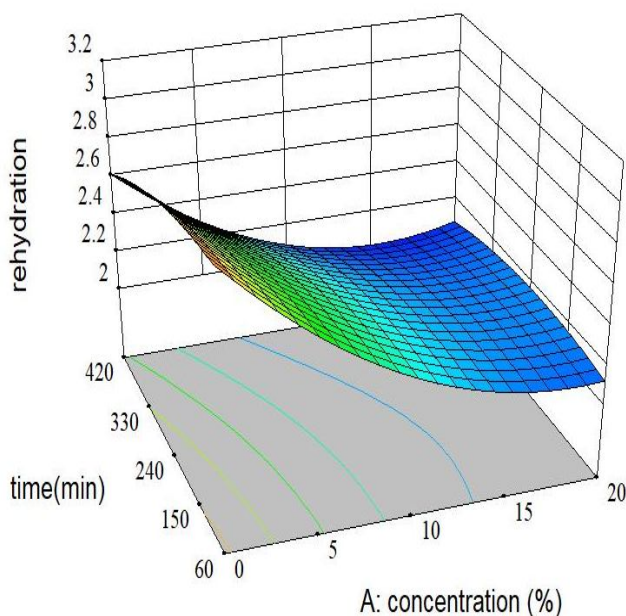
E*	b*	a*	L*	شاخص قهوه‌ای شدن	چروکیدگی (%)	باز جذب آب (%)	رطوبت (%)	دما	زمان	غلظت محلول	نمونه
13/06	37/45	3/69	44/14	0/200	2/73	79/47	8/86	60	420	0	1
11/59	27/12	-1/33	51/92	0/140	2/25	56/67	8/59	45	240	10	2
23/31	28/78	-1/01	49/87	0/180	2/24	61/41	8/59	45	240	10	3
19/67	32/53	-0/51	45/41	0/115	2/22	42/48	8/60	60	420	20	4
11/74	26/74	-3/03	52/86	0/133	2/41	58/65	8/18	45	240	20	5
41/04	42/52	-3/39	43/23	0/400	3/17	77/16	8/94	30	60	0	6
7/90	32/64	-1/69	50/84	0/141	2/21	65/65	8/59	45	240	10	7
33/53	42/43	2/08	43/33	0/123	2/70	71/50	8/59	60	240	10	8
45/57	38/35	-1/07	48/60	0/148	2/44	49/51	8/84	45	60	10	9
16/59	33/74	3/41	39/95	0/127	2/12	73/42	8/50	30	420	20	10
11/40	28/86	-1/67	47/50	0/141	1/99	62/06	8/59	45	240	10	11
36/66	37/21	2/32	41/92	0/337	2/83	77/84	8/44	30	420	0	12
10/94	37/89	2/97	44/61	0/283	3/22	71/25	8/81	60	60	0	13
29/48	36/86	1/75	45/50	0/220	2/11	52/66	8/07	60	60	20	14
8/89	34/61	-1/04	51/26	0/132	2/29	54/79	8/59	45	240	10	15
23/27	23/98	-1/68	49/14	0/080	2/21	70/64	9/35	45	420	10	16
12/98	38/75	-1/65	48/43	0/350	2/91	75/85	8/01	45	240	0	17
16/26	31/53	3/21	39/51	0/177	2/34	72/52	8/53	30	60	20	18
13/73	29/50	-1/73	48/13	0/084	2/14	53/75	8/59	45	240	10	19
34/28	35/02	3/16	40/07	0/050	2/42	70/47	8/60	30	240	10	20



شکل 1- اثر زمان (دقیقه) و غلظت محلول اسمزی (درصد) بر محتوای رطوبت (درصد) خلال‌های سیب‌زمینی، دمای محلول اسمزی 45 درجه سانتی‌گراد

بازجذب آب
تغییرات غلظت محلول اسمزی از لحاظ آماری معنی‌دار بود
($p < 0.05$).

نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که زمان غوطه‌وری و دمای محلول اسمزی، از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر میزان



شکل 2- اثر زمان (دقیقه) و غلظت محلول اسمزی (درصد) بر میزان بازجذب آب (درصد) خلال‌های سیب‌زمینی، دمای محلول اسمزی 45 درجه سانتی‌گراد

ملایم کاهش یافت، با این حال تأثیر زمان بر میزان بازجذب آب نمونه‌ها قابل توجه نبود. کاهش بازجذب آب نمونه‌ها در اثر افزایش غلظت

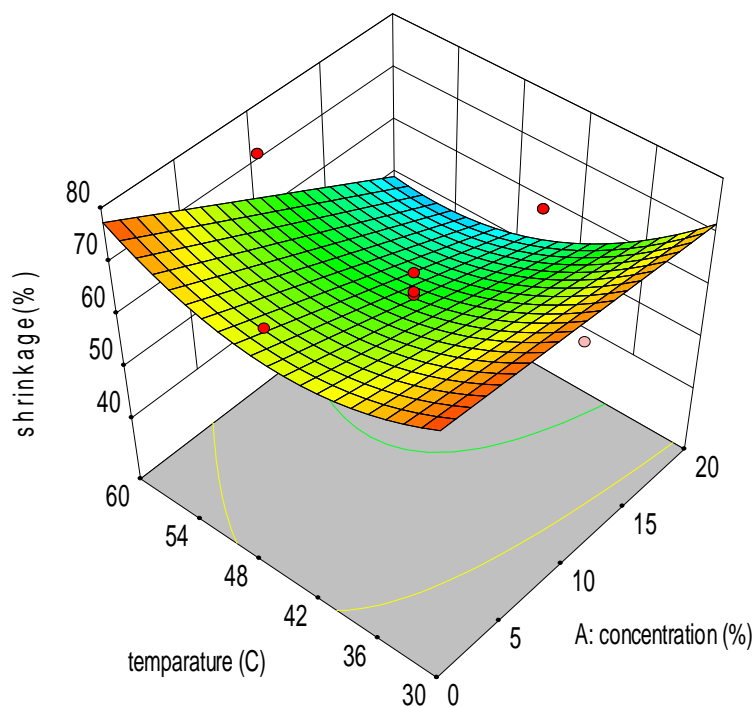
همان‌طوری که در شکل 2 ملاحظه می‌گردد، با افزایش غلظت محلول اسمزی، میزان بازجذب آب نمونه‌های سیب‌زمینی با شیب

یکی از مهم‌ترین تغییرات فیزیکی که در زمان خشک‌کردن مواد غذایی همراه با نفوذ رطوبت به خارج از ماده غذایی رخ می‌دهد، کاهش حجم پوسته خارجی یا چروکیدگی است. انتقال همزمان جرم و حرارت در هنگام خشک‌شدن مواد غذایی، تنش‌هایی در ساختار سلولی مواد غذایی ایجاد می‌کند که منجر به تغییر شکل و چروکیدگی می‌شود (Koc *et al.*, 2008). بافت ماده غذایی به دلیل تبخیر آب موجود در داخل ماده غذایی و پرشدن فضای خالی توسط هوا، توانایی حفظ ساختار شبکه مواد جامد را نداشته و باعث چروکیدگی می‌شود. علاوه بر این، ساختار بیرونی فروریخته و منجر به کاهش حجم پوسته خارجی یا چروکیدگی می‌گردد (Panyawong & Devahastin, 2007). چروکیدگی محصول از عیوب مهم حین خشک‌شدن مواد غذایی با استفاده از جریان هوای داغ محسوب شده و باعث افت خصوصیات کمی و کیفی محصول خشک‌شده می‌شود. در نتیجه، اگر بتوان محصولی متخلخل و با چروکیدگی کمتر تولید کرد، بافت محصول اصلاح شده و جذب آب در طی فرآیند بازجذب آب افزایش می‌یابد (Figiel, 2010). در تحقیق جاری با افزایش غلظت محلول اسمزی، آب بیشتری از محصول خارج می‌شود و لذا محصول پس از پیش تیمار اسمزی آب کمتری خواهد داشت و در حین خشک کردن در هوای داغ به دلیل کمتر بودن حرکت آب در داخل محصول کمتر دچار چروکیدگی شده است.

محلول اسمزی، احتمالاً به دلیل جذب مواد جامد در طی فرآیند اسمز می‌باشد، که همین امر بر روی نفوذپذیری سلول‌ها تأثیر می‌گذارد و در نتیجه میزان بازجذب آب توسط نمونه‌ها کاهش می‌یابد (Singh *et al.*, 2006). Karathanos و Rastogi (2005) و همکاران (2004) نیز نشان دادند که فرآیند آبیگری اسمزی، تأثیر منفی بر بازجذب آب دارد و دلیل آن را اشباع شدن سریع لایه زیرین سطح بافت ماده غذایی با ماده قندی و آبیگری کمتر لایه قندی در مقایسه با بافت طبیعی ماده غذایی عنوان کردند.

میزان چروکیدگی

اثر متقابل دما و تغییرات غلظت محلول اسمزی، از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر میزان چروکیدگی خلال‌های سیب‌زمینی داشتند ($p < 0.05$)، ولی تأثیر زمان از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). با توجه به شکل 3 مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت محلول اسمزی، میزان چروکیدگی نمونه‌های سیب‌زمینی کاهش یافته است. افزایش زمان آبیگری اسمزی، موجب افزایش میزان چروکیدگی نمونه‌ها شد، ولی همان‌طوری که بیان شد، این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$).

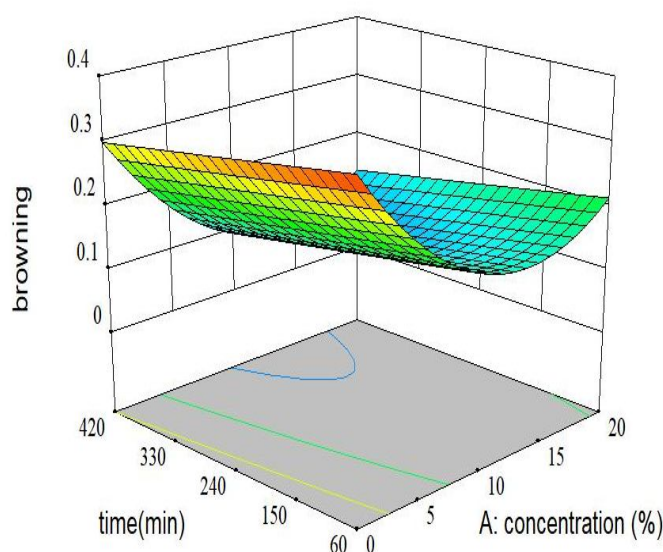


شکل 3- اثر دما (درجه سانتی‌گراد) و غلظت محلول اسمزی (درصد) بر میزان چروکیدگی (درصد) خلال‌های سیب‌زمینی، زمان غوطه‌وری در محلول اسمزی 240 دقیقه

شدن آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشد. در غلظت‌های خیلی پایین محلول اسمزی، میزان قهوه‌ای شدن به علت انجام واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی و غیر آنزیمی بالاست. به تدریج با افزایش غلظت، به دلیل اثر بازدارندگی محلول اسمزی (کلرید سدیم) بر آنزیم‌های عامل قهوه‌ای شدن از شدت واکنش‌های قهوه‌ای شدن کاسته می‌شود، ولی با افزایش بیشتر غلظت محلول اسمزی آب بیشتری از محصول خارج می‌شود و به همین دلیل در حین خشک کردن با هوای داغ اثر حرارت بر محصول بیشتر بوده و واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی بیشتر صورت گرفته‌اند و به همین دلیل شاخص قهوه‌ای شدن در این نمونه‌ها بیشتر بوده است (Krokida et al., 2000).

قهوه‌ای شدن

نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که زمان آبیگری اسمزی و تغییرات غلظت محلول اسمزی، از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر میزان شاخص قهوه‌ای شدن خلال‌های سیب‌زمینی داشتند ($p < 0.05$)، ولی تأثیر دما از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). همان‌طوری که در شکل 4 مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت محلول اسمزی، میزان شاخص قهوه‌ای شدن نمونه‌های سیب‌زمینی در ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت. افزایش زمان غوطه‌وری، موجب افزایش خطی میزان قهوه‌ای شدن نمونه‌ها شد. افزایش شاخص قهوه‌ای شدن در اثر افزایش زمان خشک کردن، به دلیل تولید بیشتر پیگمان‌های قهوه‌ای در اثر واکنش‌های قهوه‌ای



شکل 4- اثر زمان (دقیقه) و غلظت محلول اسمزی (درصد) بر میزان شاخص قهوه‌ای شدن خلال‌های سیب‌زمینی، دمای محلول اسمزی 45 درجه سانتی‌گراد

قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی به تدریج افزایش یافته و با تیره‌تر شدن رنگ، شاخص L^* کاهش می‌یابد.

در مورد زردی (b^*) نیز نتایج نشان داد که تغییرات غلظت محلول اسمزی، از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر میزان زردی رنگ خلال‌های سیب‌زمینی داشت ($p < 0.05$)، ولی تأثیر دما و زمان از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). همان‌طوری که در شکل 5- ب مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت محلول اسمزی، شدت زردی رنگ نمونه‌های سیب‌زمینی به صورت خطی کاهش یافت.

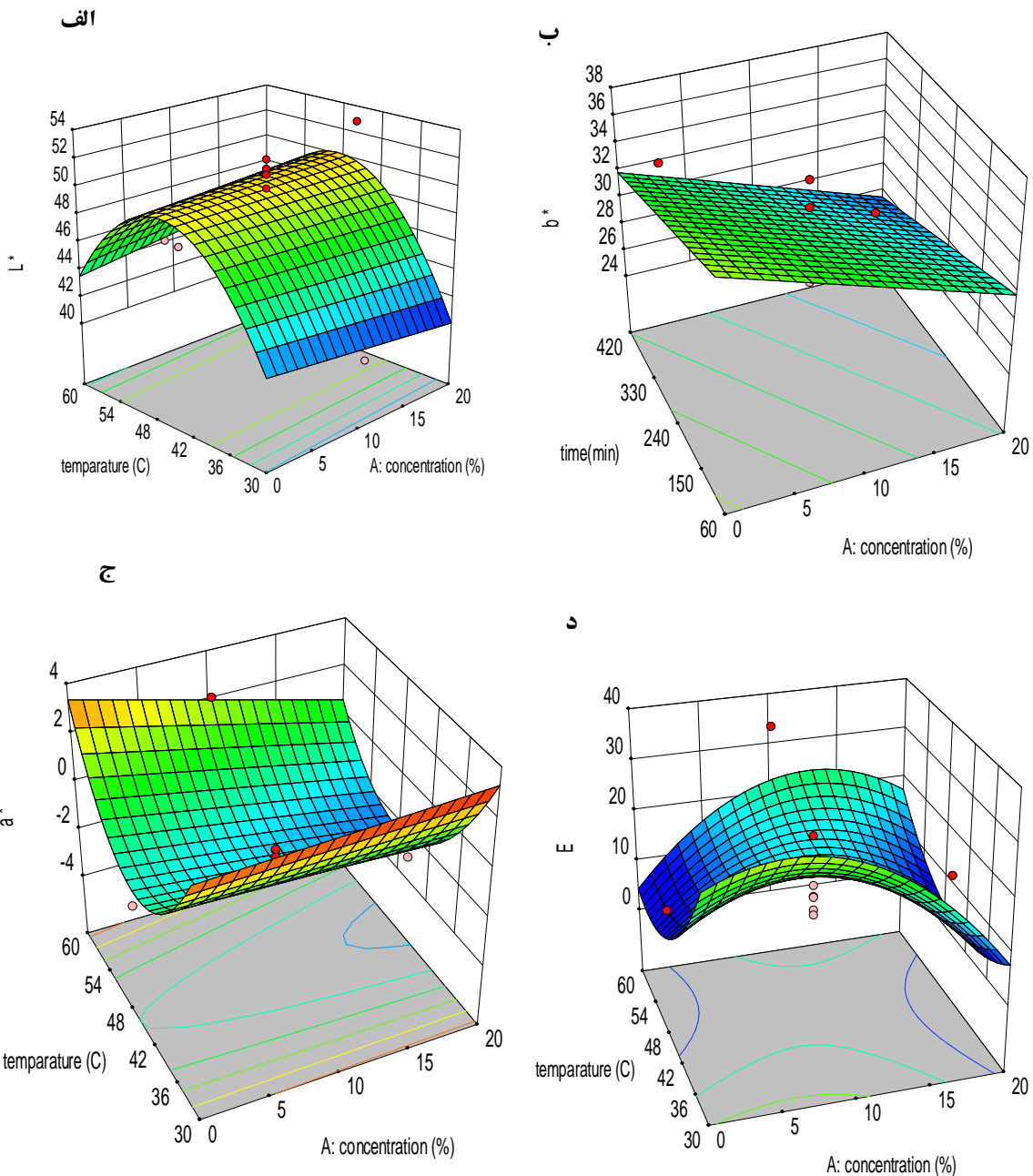
نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که دما و تغییرات غلظت محلول اسمزی، از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر میزان قرمزی (a^*) رنگ خلال‌های سیب‌زمینی داشتند ($p < 0.05$)، ولی تأثیر زمان

شاخص‌های رنگ خلال‌های سیب‌زمینی خشک‌شده

نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که دمای محلول اسمزی، از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر میزان روشنایی (L^*) رنگ خلال‌های سیب‌زمینی داشت ($p < 0.05$)، ولی تأثیر تغییرات غلظت و زمان از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). همان‌طوری که در شکل 5- الف مشاهده می‌شود، با افزایش دمای محلول اسمزی، شدت روشنایی رنگ نمونه‌های سیب‌زمینی در ابتدا افزایش و سپس کاهش یافته است. احتمالاً، در ابتدا کلرید سدیم مانع از انجام واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی شده و مقدار L^* افزایش می‌یابد، ولی با افزایش بیشتر دما از حدود 45 درجه سانتی‌گراد واکنش‌های

نشان دادند که در نمونه‌های موز خشک شده به روش اسمزی میزان قرمزی در دماهای بالاتر بیشتر از مقدار آن در دماهای پایین‌تر می‌باشد.

از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). با افزایش دمای محلول اسمزی، شدت قرمزی رنگ نمونه‌های سیب‌زمینی در ابتدا کاهش و در انتها افزایش یافت (شکل 5-ج). Krokida و همکاران (2000) نیز



شکل 5- اثر تیمارهای مختلف بر (الف) میزان روشنایی، (زمان غوطه‌وری 240 دقیقه)؛ (ب) قرمزی، (دمای محلول اسمزی 45 درجه سانتی‌گراد)؛ (ج) زردی، (زمان غوطه‌وری 240 دقیقه) و (د) تغییرات کلی رنگ، (زمان غوطه‌وری 240 دقیقه) خلال‌های سیب‌زمینی

غلظت محلول اسمزی بر میزان تغییر کلی (E) رنگ خلال‌های سیب‌زمینی معنی‌دار می‌باشند ($p < 0.05$). همان‌طوری که در شکل

نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تغییرات غلظت و دمای محلول اسمزی و همچنین اثر درجه دوم

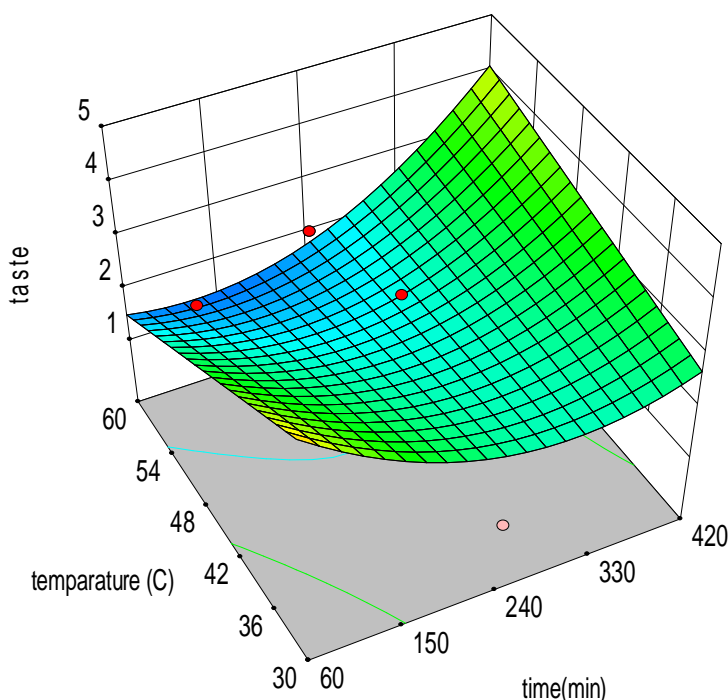
(1392) نشان دادند که تغییرات رنگ برش‌های پرتقال با افزایش زمان تماس با محلول اسمزی تا 180 دقیقه کاهش و با افزایش بیشتر مدت زمان تماس، میزان تغییرات رنگ دوباره افزایش می‌یابد. آن‌ها همچنین نشان دادند که با افزایش غلظت محلول اسمزی، تغییرات رنگ کاهش می‌یابد.

ارزیابی حسی

نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که اثر هیچ یک از عوامل مختلف مورد بررسی بر ویژگی‌های حسی نمونه‌ها معنی‌دار نبود و تنها اثر متقابل دما و زمان غوطه‌وری در محلول اسمزی و اثر توان دوم زمان غوطه‌وری بر امتیاز طعم نمونه‌ها معنی‌دار بود ($p < 0.05$). با توجه به شکل 6 مشاهده می‌شود که با افزایش دما و زمان غوطه‌وری در محلول اسمزی، امتیاز طعم نمونه‌ها افزایش یافته است که احتمالاً به این علت است که با افزایش زمان و دمای محلول اسمزی، مقدار نمک منتشر شده به داخل خلال‌ها افزایش یافته و طعم محصول را تحت تاثیر مثبت قرار داده است.

5-d مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت محلول اسمزی، میزان تغییر کلی رنگ نمونه‌های سیب‌زمینی در دماهای بالای محلول اسمزی، ابتدا افزایش و سپس کاهش یافته است. تغییر کلی رنگ یا E، بیانگر تفاوت در میزان رنگ محصول فرآوری‌شده با ماده اولیه قبل از فرآوری می‌باشد و در حقیقت، افزایش تفاوت رنگ محصول با ماده اولیه را نشان می‌دهد. ایجاد رنگ‌های جدید و در نتیجه تغییر مقادیر مولفه‌های رنگی و همچنین شاخص تغییرات کل (E)، ناشی از انجام واکنش‌های شیمیایی رنگ‌زا مثل واکنش‌های میلارد بین قندها و پروتئین‌ها و تشکیل ملانوئیدین به‌ویژه در دماهای بالاتر می‌باشد (Krokida et al., 2000).

Krokida و همکاران (2000) نشان دادند که با افزایش دمای محلول اسمزی از 30 تا 60 درجه سانتی‌گراد شاخص‌های رنگ برش‌های سیب و موز تغییر می‌کند، به این صورت که مقدار L ابتدا کاهش و سپس افزایش، مقدار a* ابتدا کاهش و سپس افزایش و مقدار b* افزایش می‌یابد. این نتایج با یافته‌های تحقیق جاری در مورد شاخص‌های رنگ سیب‌زمینی کاملاً مطابقت دارند. عزیز و همکاران



شکل 6- اثر زمان (دقیقه) و دمای محلول اسمزی (درجه سانتی‌گراد) بر امتیاز طعم خلال‌های سیب‌زمینی، غلظت محلول اسمزی 10 درصد

مناسب می‌باشد. مدل به‌دست آمده برای مقدار رطوبت مدل فاکتوریل با اثرات متقابل دوتایی (2FI) است که شکل عمومی این مدل به‌صورت رابطه 5 می‌باشد.

$$Y = b_0 + b_1A + b_2B + b_3C + b_{12}AB + b_{13}AC \quad (5)$$

مدل‌های به‌دست آمده و ارزیابی برازش آن‌ها

در جدول 2 ضرایب مربوط به مدل‌های به‌دست آمده برای هر صفت نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود مقدار ضریب همبستگی به‌دست آمده برای صفات مورد بررسی به‌جز b^* و E بالای 0/7 می‌باشد که نشان‌دهنده مناسب بودن مدل و برازش نسبتاً

مدل به‌دست آمده برای بازجذب آب و شاخص قهوه‌ای شدن مدل
 درجه دوم و مدل به‌دست آمده برای سایر صفات مدل درجه دوم کاهش
 یافته می‌باشد. شکل عمومی مدل درجه دوم به صورت رابطه 6 می‌باشد.

$$Y = b_0 + b_1A + b_2B + b_3C + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{23}BC + b_{11}A^2 + b_{22}B^2 + b_{33}C^2 \quad (6)$$

 در روابط 5 و 6، b_n ضریب مرتبط با فاکتور n و حروف A، B و C نشان‌دهنده فاکتورها در مدل هستند.

جدول 2- ضرایب مدل‌های به‌دست آمده برای صفات اندازه‌گیری شده

ضریب	رطوبت	بازجذب آب	چروکیدگی	شاخص قهوه‌ای شدن	L*	a*	b*	E
ثابت	14/07	4/54	139/65	0/25	-16/56	35/51	87/288	152/16
غلظت (A)	-0/52	-0/097	0/92	-0/044	-0/285	0/178	-0/324	-0/41
زمان (B)	0/016	-0/00047	-	-0/00005	-	-	-0/0123	-0/166
دما (C)	-0/17	-0/06	-3/16	0/0082	2/89	-1/639	-2/279	-4/6
A×B	-0/0005	0/00005	-	-0/0000006	-	-	-	-
A×C	0/01	-0/00008	-0/038	0/00024	0/0065	-0/0053	-	0/058
B×C	0/00004	0/000008	-	-0/0000035	-	-	-	-
A ²	-	0/0026	-	0/00128	-	-	-	-0/121
B ²	-	-0/000002	-	0/000000013	-	-	-	0/0003
C ²	-	0/00072	0/035	-0/000119	-0/031	0/0184	0/0258	0/042
r ²	0/71	0/87	0/71	0/91	0/89	0/94	0/63	0/67
CV	20/36	7/25	9/92	21/95	3/27	27/71	10/6	29/47

بهینه‌یابی

غوطه‌وری و دمای اسمزی، نمونه‌ها بیشترین میزان بازجذب آب و کمترین تغییرات رنگ و قهوه‌ای شدن را داشته باشند. بر این اساس، غلظت 2 درصد، زمان غوطه‌وری 173 دقیقه و دمای 46 درجه سانتی‌گراد محلول اسمزی به‌عنوان شرایط بهینه برای تولید نمونه‌های مورد نظر به‌دست آمد. شرایط بهینه‌یابی و سطوح مطلوبیت در جدول 3 نشان داده شده‌اند.

برای پیش‌بینی سطوح متغیرهای مستقل (غلظت، زمان غوطه‌وری و دمای محلول اسمزی) از روش بهینه‌سازی عددی با نرم‌افزار Design Expert 8.0.7.1 استفاده شد. معیارهای مورد استفاده برای بهینه‌یابی به این صورت تعریف شدند که با استفاده از حداقل غلظت، زمان

جدول 3- شرایط بهینه‌یابی برای تعیین بهترین دما، زمان و غلظت محلول اسمزی

شاخص	هدف	حد پایین	حد بالا	مقدار بهینه
غلظت محلول اسمزی	حداقل	0	20	2/07
زمان غوطه‌وری	حداقل	60	420	173/13
دمای محلول اسمزی	حداقل	30	60	46/06
درصد بازجذب آب	حداکثر	1/98	3/22	2/78
شاخص قهوه‌ای شدن	حداقل	0/05	0/4	0/28
b*	حداکثر	23/98	42/83	34/41
a*	حداقل	-3/02	3/68	-1/34
L*	حداکثر	39/5	52/86	50/52
E	حداقل	7/9	45/57	13/44
سطح مطلوبیت	-	-	-	0/71

اسمزی، بر تغییرات رنگ نمونه‌ها نیز مؤثر بود. افزایش غلظت محلول اسمزی موجب کاهش محتوای رطوبت و افزایش بازجذب آب گردید و بر تغییرات رنگ محصول نیز مؤثر بود. با افزایش زمان غوطه‌وری و دمای محلول اسمزی امتیاز طعم افزایش پیدا کرد. نتایج بهینه‌یابی با روش سطح پاسخ، نشان داد که شرایط مطلوب برای پیش‌تیمار آبیگری اسمزی جهت خشک کردن خلال‌های سیب‌زمینی، غلظت 2 درصد، دمای 46 درجه سانتی‌گراد و زمان 173 دقیقه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، اثر پیش‌تیمار آبیگری اسمزی بر کیفیت خلال‌های سیب‌زمینی خشک شده با جریان هوا مورد بررسی قرار گرفته و بهینه‌یابی تیمارها با استفاده از روش سطح پاسخ صورت گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش زمان غوطه‌وری در محلول اسمزی، محتوای رطوبت و بازجذب آب افزایش یافت. زمان غوطه‌وری در محلول

منابع

- سلیمانی، ج.، آصفی، ن.، 1390، تاثیر پیش فرآیند اسمز بر دانسیته هویج خشک شده با هوای گرم. نشریه بهداشت مواد غذایی، 1(4)، 37-44.
- عزیزی خصال، م.، بصیری، ع.، مقصدلو، ی.، 1392، بهینه سازی فرآیند ترکیبی آبیگری اسمزی در فشار کاهش یافته ناپیوسته-خشک کردن با هوای داغ برش های پرتقال با استفاده از روش سطح پاسخ. علوم غذایی و تغذیه، 10(3)، 63-72.
- محمدی، م.، محمدپور کاریزکی، و.، 1395، استفاده از پردازش تصویر جهت مطالعه فرآیند خشک کردن اسمزی سیب زمینی. علوم و صنایع غذایی ایران، 13 (56)، 81-90.
- Alakali, J.S., Ariaahu, C.C., Kpa, N.N., 2006, Kinetics of osmotic dehydration of mango. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30, 597-607
- AOAC., 1995, Official Methods of Analysis: Official Method for Moisture. Method No. 925.10. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
- Bakalis, S. and Karathanos, VT., 2005, Study of rehydration of osmotically pretreated dried fruit samples. *Drying Technology*, 23, 533-549.
- Changrue, V., 2006, Hybrid (Osmotic, Microwave-vacuum) Drying of Strawberries and Carrots Viboon Changrue. A thesis submitted to McGill University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy.
- Chavan, U.D. Amarowicz., R., 2012, Osmotic Dehydration Process for Preservation of Fruits and Vegetables. *Journal of Food Research*, 1(2), 201-209.
- Fathi, M., Mohebbi, M. and Razavi, S. M. A., 2011, Application of image analysis and artificial neural network to predict mass transfer kinetics and color changes of osmotically dehydrated kiwifruit. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1357-1366.
- Fernandes, F. A. N., Rodrigues, S., Gaspareto, O. C. P., Oliveira, E. L., 2006, Optimization of osmotic dehydration of papaya followed by air-drying. *Food Research International*, 39, 492-498.
- Figiel, A., 2010, Drying kinetics and quality of beetroots dehydrated by combination of convective and vacuum-microwave methods. *Journal of Food Engineering*, (98): 461-470.
- Friedman, M., 1997, Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1523-1540.
- Gani, G. and Kumar. A., 2013, Effect of drying temperature and microwave power on the physico-chemical characteristics of osmo-dehydrated carrot slices. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3(11), 2250-3153.
- Ispir, A., Togrul, T.I., 2009, Osmotic dehydration of apricot: Kinetics and the effect of process parameters. *Chemical Engineering Research and Design*, 78, 166-180.
- Katan, M. B., De Roos, N. M., 2004, Promises and problems of functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 369-377.
- Koc, B., Eren, I., and Ertekin, F.K. 2008. Modelling bulk density, porosity and shrinkage of quince during drying: The effect of drying method. *Journal of Food Engineering*, (85): 340-349.
- Krokida, M.K., Karathanos, V.T. and Maroulis, Z.B., 2000, Effect of osmotic dehydration on color and sorption characteristics of apple and banana. *Drying Technology*, 18(4-5), 937-950.
- Matusek, A., Czukur, B., Meresz, P., 2008, Comparison of sucrose and fructo-oligosaccharides as osmotic agents in apple. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 365-373.
- Pandharipande, S.L., Saurav, P., Ankit, S.S., 2012, "Modeling of Osmotic Dehydration Kinetics of Banana Slices using Artificial Neural Network. *International Journal of Computer Applications*, 48 (3), 26-31.
- Panyawong, S. and Devahastin, S., 2007, Determination of deformation of a food product undergoing different drying methods and conditions via evolution of a shape factor. *Journal of Food Engineering*, (78), 151-161.
- Piotrowski, D., Lenart, A., Wardzyński, A., 2004, Influence of osmotic dehydration on microwave-convective drying of frozen strawberries. *Journal of Food Engineering*, 65, 519-25.

- Rahman, M.S., Lamb, L., 1990, Osmotic dehydration of pineapple. *Journal of Food Science and Technology*, 27, 150-152.
- Raoult-Wack, AL., 1994, Recent advances in the osmotic dehydration of foods. *Trends of Food Science and Technology*, 5, 255-260.
- Rastogi, N.K., Nayak, C.A. and Raghavarao, K., 2004, Influence of osmotic pre-treatments on rehydration characteristics of carrots. *Journal of Food Engineering*, 65(2), 287-292.
- Shakouri, S., Ziaolhagh, H.R., Sharifi-Rad, J., Heydari-Majd, M., Tajali, R., Nezarat, S. and Da Silva, J.A.T., 2015, The effect of packaging material and storage period on microwave-dried potato (*Solanum tuberosum* L.) cubes. *Journal of food science and technology*, 52(6), 3899-3910.
- Shi, J.J., 2008, Osmotic Dehydration of Foods," Food Drying Science and Technology: Microbiology, Chemistry, Applications, DEStech Publications, Inc. Pennsylvania, U. S. A 275-295.
- Singh, B., Panesar, S., Gupta, A.K. and Kennedy, F., 2006, Optimization of osmotic dehydration of carrot cubes in sucrose-salt solutions using response methodology. *European Food Research and Technology*, 225, 157-165.
- Tiwari, R. B., Jalali, S., 2004, Studies on osmtic dehydration of different varieties of mango. In proceeding of First Indian Horticulture congress-2004, New Delhi.
- Tkalcic, M. and Tasic, J.F., 2003, Colour spaces: perceptual, historical, and applicational background. *IEEE*, 1, 304-308.
- Torres, J.D., Talens, P., Escriche, I.A., 2012, Chiralt Influence of process conditions on mechanical properties of osmotically dehydrated mango. *Journal of Food Engineering*, 4, 240-246.
- Wang, R., Zhang, M., & Mujumdar, A. S., 2010, Effect of osmotic dehydration on microwave freeze-drying characteristics and quality of potato chips. *Drying Technology*, 28(6), 798-806.
- Ziaolhagh, S. H. R., 1999, Investigation on the quality and shelf life of raisin and dried apricots in different export packages. M.Sc.Thesis. Ferdowsi University of Mashhad.

Study on the effect of osmotic pretreatment on the quality of air-dried potato sticks using response surface methodology

N. Jafari¹, S. H. R. Ziaolhagh^{2*}, A. R. Mohammadi Nafchi³

Received: 2018.04.26

Accepted: 2018.12.30

Introduction: Potato is the fourth most important agricultural product after rice, wheat, and corn. Potato produces more dry matter, protein, and minerals per unit area in comparison with other crops. Many of the ingredients in potato are important, due to their beneficial effects on health. Hence, this product is very suitable for human consumption. Osmotic dehydration is used to remove a portion of water from foods such as fruits and vegetables, by immersion in high osmotic solutions such as sugars and salts. Osmotic dehydration is a relatively simple and economical process that improves the texture and rehydration properties of the products and prevents enzymatic browning by preventing the activity of polyphenol oxidases. In this process, the acid is removed and the sugar is absorbed, thus the composition of the fruits is changed and the taste and total acceptance of the product are improved. Osmotic dehydrating method has been used for drying various products such as carrots, mangoes, pineapples, strawberries, bananas, apples, apricots, and many other fruits. In this research, the effects of osmotic pre-treatment on qualitative and sensory properties of dried potatoes were investigated.

Materials and methods: In this study, Agria cv. potato samples were used and after washing, were completely peeled and cut into pieces of $3.5 \times 0.5 \times 0.5$ cm. The treatments used in this study included osmotic solution concentration (at 0, 10 and 20% sodium chloride levels), osmotic solution temperature (30, 45 and 60°C), and immersion time in osmotic solution (at three levels 60, 240 and 720 minutes). The proportion of potato sticks to osmotic solution in all experiments was 1:6. After applying osmotic pre-treatment, samples were dried in an oven with a temperature of 60°C and a flow rate of 1.5 m/s to reach a moisture content of 8-10%. The moisture content, rehydration capacity, shrinkage, browning, color indices, and sensory properties (taste, color, shape, strength, and total acceptance) of potato samples were evaluated after the drying process and the response surface methodology (RSM) based on central composite design (CCD) were used to determine the optimal conditions for osmotic pre-treatment.

Results and discussion: The results of statistical analysis of the data showed that osmotic time and osmotic solution concentration had a significant effect on moisture content of potato slices. By increasing the time and decreasing the concentration of osmotic solution, moisture content of dried potato samples increased. The immersion time and osmotic solution temperature did not have any significant effect on the rehydration of potato slices, but the effect of osmotic solution's concentration was statistically significant. By increasing the concentration of osmotic solution, the rehydration rate of potato samples decreased. The results showed that the interaction of temperature and concentration of osmotic solution had a significant effect on the degree of shrinkage of potato slices. Osmotic time and osmotic solution concentration had statistically significant effects on the browning index of potato slices, in a way that by increasing the concentration of osmotic solution, the browning index of potato samples decreased initially and then increased. The results of statistical analysis of the color indices showed that the osmotic solution temperature had a significant effect on the brightness (L^*) of the potato slices, while the concentration of osmotic solution significantly affected their yellowness (b^*) and the temperature and concentration of osmotic solution had a significant effect on the redness (a^*) of the potato slices. By increasing the concentration of osmotic solution, the overall change in the color (E) of potato samples at high temperatures of osmotic solution first increased and then decreased. Sensory evaluation results showed that concentration, time, and temperature of osmotic solution had no significant effect on the sensory properties of potato sticks, except for taste. By increasing the temperature and time of immersion in osmotic solution, the taste scores of the samples increased. According to the results of optimization by the surface response method, the concentration of 2%, temperature of 46°C and dipping time of 173 min was introduced as favorable conditions.

Keywords: air drying, dried foods, osmotic dehydration, potato products, Response surface methodology

1. MSc Student, Department of Food Science and Technology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
 2. Assistant professor, Agricultural Engineering Research Department, Semnan (Shahrood) Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shahrood, Iran.
 3. Associate Professor, Food & Chemical Engineering Department, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
- (*Corresponding Author Email: hziaolhagh@gmail.com)

بررسی پتانسیل زغال فعال تولیدی از پوست انار به‌عنوان جاذب رنگ و فلزات دو و سه ظرفیتی در محیط‌های مایع

نرگس هادی گل¹ - مریم فهیم دانش^{2*} - سپیده حسینی³

تاریخ دریافت: 1396/09/01

تاریخ پذیرش: 1398/02/03

چکیده

پوست انار یکی از منابع مهم ترکیبات زیست فعال بوده که توانایی بالایی در جایگزینی منبع زغال فعال مناسب برای جذب فلزات سنگین و رنگبری در محیط مایع دارد. هدف از این تحقیق بررسی توانایی پوست انار در کاهش غلظت فلزات سنگین موجود در آب و روغن و همچنین ارزیابی عملکرد رنگبری روغن آن است. در مرحله اول تحقیق شرایط جذب یون‌های فلزی در محیط آبی بهینه‌سازی گردید به‌این ترتیب که سه متغیر مستقل (X₁) pH، زمان مجاورت ماده جاذب و فلزات (X₂) و غلظت ماده جاذب در محیط آبی (X₃) بر درصد جذب یون‌های آهن و کروم (متغیرهای وابسته) بر اساس طرح باکس- بانکن بررسی شد. نتایج نشان داد که بیشترین جذب فلزات در شرایط pH=5/3، در زمان 200 دقیقه و غلظت ماده جاذب 2/5 گرم در لیتر روی می‌دهد. در شرایط بهینه جذب فلزات سنگین سرب، جیوه و آرسنیک نیز مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که جاذب باعث کاهش 80 درصدی این یون‌ها می‌شود. در مرحله بعد توانایی رنگبری و کاهش فلزات سنگین زغال فعال تولیدی در محیط روغن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد این جاذب توانایی خوبی برای رنگبری و پایداری اکسیداسیون روغن دارد. در رابطه با کاهش فلزات سنگین روغن نیز ماده جاذب تولیدشده از پوست انار عملکرد بهتری نسبت به خاک رنگ‌بر تجاری نشان داد.

واژه‌های کلیدی: پوست انار، جاذب، رنگبری، فلزات سنگین، روغن کنجد

مقدمه

الازییک اسید) است که 92 درصد خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن به این ترکیبات مربوط است (Celik et al., 2009). گالیک اسید، الازییک اسید و پانیکالین علاوه بر داشتن خاصیت جذب رادیکال‌های آزاد دارای خاصیت ضدباکتریایی علیه پاتوژن‌های روده مانند *اشرشیاکلی*، گونه‌های سالمونلا، *شیکلا* و همچنین *ویبریو کلرا* می‌باشند (Aviram et al., 2008; Lu and Yuan, 2008). علاوه بر نقش دارویی و تغذیه‌ای شناخته‌شده‌ای که پوست انار دارد این ماده در صنایع مختلف دیگری همانند دباغی، داروسازی رنگرزی و صنایع غذایی نیز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. به‌طور سنتی از تانن موجود در پوست انار برای افزایش انعطاف‌پذیری، قابلیت کشش و پر و سنگین شدن چرم استفاده می‌شود (Seeram et al., 2004).

فلزات و علی‌الخصوص فلزات سنگین زمانی که غلظت آنها از مقدار مشخصی بیشتر شود باعث آسیب رساندن به سلامتی انسان و محیط‌زیست می‌گردد (El-Ashtoukhy et al., 2007). علاوه بر این

انار (*Punica granatum L*) یکی از میوه‌های بومی ایران است که بیش از 500 رقم مختلف دارد. ایران با تولید بیش از یک میلیون تن در سال رتبه اول تولید انار در جهان را دارد (مقاله مهریزی و همکاران، 1394). این میوه معمولاً به‌صورت تازه و یا برای تولید محصولات می‌مانند آبمیوه، رب و مربا مورد استفاده قرار می‌گیرد. در حدود 25 تا 30% انار را پوست آن تشکیل می‌دهد (Lu and Yuan, 2008). پوست انار یکی از ضایعات اصلی کارخانه‌های فرآوری کننده انار است که قیمت بسیار ارزانی دارد. از دیرباز از پوست انار در طب سنتی استفاده می‌شود اما تحقیقات در سال‌های اخیر نشان داده است که پوست انار ارزش فناورانه و بیولوژیکی بالایی دارد (Afaq et al., 2005; Zahin et al., 2010). پوست انار حاوی ترکیبات فنلی (آنتوسیانین کاتچین و سایر فلاونوئیدها) و تانن قابل هیدرولیز (پانیکالین⁴، پدانکلیگن⁵، پانیکالاژین⁶، گالیک و

DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.68925

4 punicalin

5 pedunculagin,

6 punicalagin

1 و 2- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

3- عضو باشگاه پژوهشگران جوان، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

* - نویسنده مسئول: (Email: m.Fahimdanesh@Qodsiau.ac.ir)

شد. روغن کنجد بکر از دانه‌های کنجد (خریداری شده از بازار محلی) استخراج گردید و مورد استفاده قرار گرفت. خاک رنگ بر تونسیل که از آزمایشگاهی که تحت نظارت سازمان غذا و داروی قم بود تهیه شد سایر ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق دارای درجه آزمایشگاهی است. استات سرب، دی کرومات پتاسیم، سولفات آهن، کلرید آرسنیک و کلرید جیوه برای تهیه محلول استوک Cr (II)، Pb (II)، VI، Fe (II)، As (III) و Hg (II) مورد استفاده قرار گرفت. برای تنظیم pH در طول آزمایش‌ها از اسید هیدروکلریک و سدیم هیدرواکساید 0/1 نرمال استفاده گردید.

تهیه کربن فعال

مقدار 500 گرم از پودر خشک پوست انار در بخش‌های کوچک در زیر هود با 1000 میلی‌لیتر از اسیدسولفوریک 98 درصد مخلوط گردید و به مدت 24 ساعت در دمای اتاق نگهداری شد و در نهایت برای پایان دادن به واکنش، مخلوط به 4 لیتر آب مقطر اضافه گردید و زغال تولید شده صاف شد. برای از بین بردن اسید باقی‌مانده به منظور شستشو از محلول NaHCO_3 1 درصد استفاده شد. در نهایت کربن فعال تولید شده با آب مقطر شستشو داده شد تا pH آن به 6 برسد. سپس کربن فعال در آن در دمای 105 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت خشک گردید و تا زمان مصرف در ظرف شیشه‌ای نگهداری شد. بازده تولید کربن فعال یا ماده جاذب از طریق رابطه (1) محاسبه گردید (El. Nemer 2009).

$$\% \text{ yield} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \quad (1)$$

W_1 وزن پودر اولیه قبل از کربونیزه شدن، W_2 وزن بعد از کربونیزه شدن است.

اندازه‌گیری خصوصیات کربن فعال تولیدی

دانسیتته توده و دانسیته متراکم کربن فعال تولیدی به ترتیب مطابق روش ASTM D7481 و ASTM D3467 اندازه‌گیری شد به این ترتیب که ابتدا یک استوانه مدرج 100ml که به وزن ثابت رسیده و وزن خالی آن یادداشت شده است به آرامی تا خط نشانه از پودر پر شده و وزن گردید. سپس جرم خوانده شده از روی ترازو بر حجم اشغال شده توسط پودر تقسیم شده و دانسته ظاهری پودر به دست آمد تا دانسیته توده بر اساس g/cm^3 به دست آید. بعد از به دست آوردن دانسیته توده، استوانه محتوی پودر به مدت 5 دقیقه روی دستگاه ورتکس قرار داده شد تا حداقل 500 مرتبه استوانه بر روی دستگاه هم بخورد و هوای بین ذرات آن خارج شود در نهایت وزن و حجم پودر اندازه گرفته شده و مقدار دانسیته متراکم به دست آمد. مقدار تخلخل porosity پودر با استفاده از رابطه (2) محاسبه گردید (چهرمی و همکاران، 1393).

حضور فلزات در آب مورد استفاده در صنعت غذا می‌تواند بر کیفیت محصول نهایی تأثیرگذار باشد. برای جلوگیری از تأثیرات سمی و مزاحمت‌های این فلزات می‌بایست مانع از تجمع آن‌ها در زنجیره غذایی انسان و اکوسیستم شد. برای رسیدن به این هدف غلظت فلزات در آب‌های ورودی و فاضلاب‌های خروجی کارخانه‌ها می‌بایست کنترل گردد (Bansal and Goyal, 2005). متداول‌ترین روش‌های مورد استفاده برای کاهش فلزات، استفاده از پالایه‌های غشایی، رسوب شیمیایی، تبادل یون و جذب است. کربن فعال از جمله موادی است که توانایی بالایی برای جذب داشته و به‌طور مؤثری برای کاهش فلزات، رنگ و بو استفاده می‌شود. هزینه بالای سرمایه‌گذاری و بازسازی کربن فعال باعث شده است که استفاده از آن محدود گردد (Pillai *et al.*, 2009)؛ بنابراین یافتن منبع جایگزینی برای آن از ضایعات صنایع غذایی و کشاورزی توجهات زیادی را به خود جلب نموده است. علاوه بر این چربی‌ها و روغن‌های خام گیاهی دارای ناخالصی‌هایی می‌باشند که می‌بایست از روغن جدا شوند این ناخالصی‌ها شامل اسیدهای چرب آزاد، فسفاتیدها و سایر مواد صمغی، موم‌ها، رنگ‌دانه‌ها، پراکسیدها و مواد حاصل از اکسیداسیون، فلزات و غیره هستند. بی‌رنگ کردن روغن‌ها یکی از مراحل تصفیه است که شامل عمل جذب و خارج کردن رنگ‌دانه‌هایی است که در روغن محلول، یا پراکنده هستند (kaynak *et al.*, 2004). نتایج تحقیقات گذشته نشان داده است که پوست انار و زغال حاصل از آن توانایی بالایی در جذب رنگ و فلزات به‌ویژه فلزات سنگین از محیط‌های مایع را دارد (El Nemr, 2009; Bhatnagar and Minocha, 2009; Alam *et al.*, 2012).

موضوع اصلی این تحقیق در مرحله اول بررسی توانایی زغال پوست انار در کاهش غلظت فلزات آهن، کروم، سرب، جیوه و مس در آب و بهینه‌سازی شرایط برای افزایش عملکرد آن است. برای این منظور از پوست دو واریته مختلف انار برای کاهش غلظت فلزات استفاده شده و تأثیر عواملی مانند دما، زمان مجاورت پوست انار و محیط آبی و pH محیط بر عملکرد جذب پوست انار با استفاده از روش سطح پاسخ بررسی می‌گردد. در مرحله دوم توانایی زغال حاصل از پوست انار در رنگ‌بری و کاهش محتوای فلزات سنگین روغن و تأثیر تیمار بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی روغن بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

میوه انار (*P. granatum*) واریته‌های آلك ساوه و پوست سیاه ساوه از بازار محلی شهر ساوه خریداری شد. میوه‌ها به‌صورت دستی پوست‌گیری و با آب مقطر شسته شو گردید. سپس پوست‌ها توسط نور آفتاب خشک شد و با آسیاب برقی پودر گردید و از الک (مش 45) عبور داده شد تا اندازه ذرات آن تقریباً در محدوده 0/3 میلی‌متر قرار گیرد. پودر آماده شده بسته‌بندی شد و تا زمان مصرف در دمای اتاق نگهداری

دمای 90 درجه سانتی‌گراد در خلأ به مدت یک ساعت بر روی روغن انجام گرفت (روغن با سرعت 50 rpm مخلوط شد).

به منظور بررسی تغییرات رنگ از دستگاه هانتربل (color Flex EZ) استفاده گردید و نتایج به صورت تغییرات شدت رنگ زردی، قرمزی و شدت روشنایی تعیین شد. به منظور تعیین عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها از روش AOAC 965.33 استفاده گردید و نتایج به صورت میلی‌اکی‌والان عدد پراکسید در کیلوگرم روغن گزارش گردید. ضریب شکست روغن‌ها مطابق با روش AOAC 921.08 در سه تکرار در دمای 30 درجه سانتی‌گراد تعیین شد (AOAC, 2016). بر اساس روش پیشنهادی IUPAC 2.206 دی‌ان کنجوگه توسط اسپکتروفتومتری فرابنفش اندازه‌گیری شد. مقدار فلزات سنگین نمونه مطابق با روش IUPAC 2.631 آماده‌سازی و مستقیماً به دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی تزریق گردید (IUPAC, 1988). جهت تعیین ترکیب اسید چرب ابتدا مشتق متیل استر اسیدهای چرب مطابق با روش AOCS, Ce 1-62 تهیه گردید و سپس متیل استر اسیدهای چرب توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی با شناساگر جرمی مورد ارزیابی قرار گرفت (AOCS, 2007).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به منظور طراحی آزمایش‌ها از روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن استفاده گردید تا تأثیر متغیرهای مستقل pH (X1)، زمان مجاورت ماده جاذب و فلزات (X2) و غلظت ماده جاذب در محیط (X3) بر درصد جذب فلزات آهن و کروم (متغیرهای وابسته) بررسی گردد. pH در محدوده 9-1/5، زمان در محدوده 300-10 دقیقه و غلظت ماده جامد در محدوده 10-1 گرم در لیتر تغییر کرد. از نرم‌افزار Eper Design ورژن 7 برای طراحی روش سطح پاسخ استفاده گردید. جدول 2 طرح تیمارهای طراحی شده و نتایج درصد جذب فلزات آهن و کروم را نشان می‌دهد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های ماده جاذب

خصوصیات فیزیکی زغال فعال تولید شده از پوست انار وارپته آلک ساوه و پوست سیاه در جدول 1 آورده شده است. دانسیته نشان‌دهنده چگونگی تراکم ماده در داخل جسم است و یکی از عوامل تعیین‌کننده کیفیت پودر، حجم وسایل حمل‌ونقل و ظروف نگهداری است (Ganesan *et al.*, 2008). دانسیته توده در واقع نسبت جرم کل به حجم کل اشغال شده توسط پودر است در حالی که دانسیته متراکم نسبت جرم کل به حجم کل منهای حجم هوای آزاد بین دانه‌های پودر است هرچه مقدار حجم فضای بین ذرات پودر بیشتر باشد اختلاف بین دانسیته توده یا ظاهری و دانسیته متراکم بیشتر می‌شود. در میان زغال

$$porosity = 1 - \frac{bulk\ density}{tapped\ density} \quad (2)$$

توانایی جذب فلزات

برای بررسی قدرت جذب کربن فعال تولیدشده، در محیط آبی مقدار مشخصی یون فلز ریخته و ظرف شیشه‌ای حاوی آن‌ها در حمام آبی با دمای کنترل‌شده‌ای ثابت گردید و با میکسر Qualtech (VSM، چین) با سرعت 150 rpm تا مدت‌زمان مشخصی هم زده شد. سپس مخلوط پالایه گشته تا ماده جامد آن جدا شود و مایع صاف شده برای اندازه‌گیری مقدار فلزات مورد بررسی قرار گرفت. مقدار فلز حذف شده با استفاده از رابطه 3 و ظرفیت جذب فلزات توسط کربن فعال تولیدی با استفاده از رابطه 4 محاسبه گردید.

$$\% removal = \frac{C1 - C2}{C1} \times 100 \quad (3)$$

$$AC(mg/g) = (C1 - C2) \frac{V}{W} \quad (4)$$

C1 غلظت اولیه فلز، C2 غلظت نهایی فلز، V حجم محلول و W وزن ماده جاذب (کربن فعال تولیدی) بر حسب گرم می‌باشد (El-Ashtouky *et al.*, 2008).

اندازه‌گیری مقدار فلزات

برای اندازه‌گیری مقدار آهن و کروم در محیط آبی به ترتیب از روش استاندارد 15-ASTM D1068 و 17-ASTM D1687 استفاده گردید. به منظور تهیه محلول استوک کروم (500 ppm) و محلول استوک آهن (500 ppm) به ترتیب مقدار 0/1415 گرم از دی کرومات پتاسیم و 0/4325 گرم سولفات آهن و آمونیوم در 100 میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و محلول‌های رقیق‌تر از این محلول اولیه تهیه شد. مقدار غلظت آهن در مجاورت معرف 0/1 درصد ارتوفنانترولین در طول موج 510 نانومتری توسط اسپکتروفتومتری UV-visible, Varian (CARY 100 Bio) و مقدار غلظت کروم در مجاورت معرف 0/5 درصد دی‌فنیل کربازید در طول موج 540 نانومتری (UV-visible, Varian CARY 100 Bio) اندازه گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل سایر فلزات سنگین سرب (استات سرب)، آرسنیک (آرسنیک کلراید) و جیوه (نیترات جیوه) از دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی شعله‌ای (Perkin-Elmer, 2380) استفاده شد (Annadurai *et al.*, 2003; Tang *et al.*, 2015). شرایط استفاده از دستگاه بر اساس دستورالعمل دستگاه مذکور انتخاب گردید.

توانایی رنگ‌بری روغن

در این بخش از تحقیق توانایی زغال فعال تولیدی در کاهش رنگ و سایر خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن کنجد مورد بررسی قرار گرفت به این ترتیب که به 100 میلی‌لیتر از روغن کنجد، 1 گرم از خاک رنگ‌بر تجاری و زغال فعال تولیدشده از پوست انار اضافه گشت و رنگ‌بری در

فعال تولیدشده از اکسیداسیون پوست انار، پودر تولیدشده از انار واریته پوست سیاه دانسیته توده و ظاهری بیشتری دارد اما این تفاوت در سطح اطمینان 95 درصد معنی‌دار نیست. مهم‌ترین ویژگی در رابطه با جذب سطحی یک پودر میزان تخلخل یا مقدار پراسیتی آن می‌باشد.

جدول 1- خصوصیات فیزیکی ماده جاذب تولیدشده از پوست انار

پوست انار*	دانسیته توده (kg/m ³)	دانسیته متراکم (kg/m ³)	پراسیتی (%)	بازده تولید (%)	محتوای رطوبت (%)	محتوای خاکستر (%)
آلک ساوه	286/3±5/3 ^a	495/1±10/6 ^a	42/5±6/0 ^a	58/9±4/1 ^a	7/5±1/6 ^a	31/9±2/4 ^a
پوست سیاه	303/9±7/1 ^a	542/9±18/6 ^a	44/0±3/5 ^a	45/6±4/1 ^b	6/9±0/9 ^a	45/7±3/7 ^b

*حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p < 0.05) است.

واریانس (ANOVA) عوامل مستقل بر جذب فلز آهن و کروم می‌توان گفت که تمامی متغیرهای pH، زمان و غلظت ماده جاذب بر جذب فلزات اثر معنی‌داری (p < 0.05) دارند. درحالی‌که اثر متقابل هیچ‌یک از متغیرها بر جذب فلزات اثر معنی‌داری (p < 0.05) ندارد.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس و مقادیر p مربوطه ضرایب پیش‌بینی شده برای هر یک از متغیرهای مستقل بر درصد جذب فلزات به‌دست آمد که معادلات نهایی آن برای فلز آهن (رابطه 5) و برای فلز کروم (رابطه 6) آورده شده است.

$$Fe (\% \text{removal}) = +97.84 + 18.03X_1 + 5.81X_2 + 7.03X_3 - 39.16X_1^2 - 9.95X_2^2 - 7.56X_3^2 \quad (5)$$

$$Cr (\text{removal}) = +95.58 + 19.63X_1 + 5.85X_2 + 6.44X_3 - 34.46X_1^2 - 12.11X_2^2 - 7.42X_3^2 \quad (6)$$

ضرایب پیش‌بینی شده برای درصد جذب آهن و کروم نشان داد که عملکرد ماده جاذب در رابطه با این دو فلز مشابه بوده و در بین عوامل موردبررسی به‌ترتیب pH، غلظت ماده جاذب و زمان بیش‌ترین تأثیر را بر کاهش فلزات در محیط آبی داشته است.

تأثیر pH بر درصد جذب فلزات آهن و کروم

pH محلول یکی از عواملی است که تأثیر معنی‌داری (p < 0.05) بر جذب فلزات سنگین می‌گذارد. چگونگی جذب فلزات آهن و کروم در pHهای مختلف محلول در زمان‌های متفاوت در شکل 1 (الف و ب) آورده شده است. تأثیری که pH بر بار سطحی جاذب می‌گذارد و یا تأثیری که بر نوع یونیزه شدن ماده جاذب شونده دارد می‌تواند از جمله دلایل این تغییرات باشد. شکل 1 الف نشان می‌دهد که حداکثر جذب فلز آهن در محدوده pH 7-4 است که با کاهش و یا افزایش pH به مقادیر بیشتر و یا کمتر به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. در رابطه با فلز کروم حداکثر جذب در pH 5/6-4 مشاهده شد (شکل 1- ب) که با فاصله گرفتن از این محدوده درصد جذب کاهش یافت. بر اساس

بهبودسازی شرایط جذب فلزات توسط ماده جاذب

نتایج درصد جذب فلزات آهن و کروم (با غلظت اولیه 100 ppm) در تمامی آزمون‌ها در جدول 2 آورده شده است.

جدول 2- درصد جذب آهن و کروم به‌دست‌آمده از آزمایش‌ها

تیمار	pH	زمان (min)	طرح باکس-بنکن		
			غلظت ماده جاذب (gl ⁻¹)	آهن (% جذب)	کروم (% جذب)
1	1/5	10	5/50	24	35
2	9/0	10	5/50	42	35
3	1/5	300	5/50	39	45
4	9/0	300	2/50	45	30
5	1/5	155	1/00	27	33
6	9/0	155	1/00	42	36
7	1/5	155	10/00	39	42
8	9/0	155	10/00	39	46
9	5/2	10	1/00	62	65
10	5/2	300	1/00	82	84
11	5/2	10	10/00	73	75
12	5/2	300	10/00	95	92
13	5/2	155	5/50	97	98
14	5/2	155	5/50	94	96
15	6/5	10	5/50	92	92
16	4/5	10	5/50	92	97
17	7/0	10	2/50	83	80

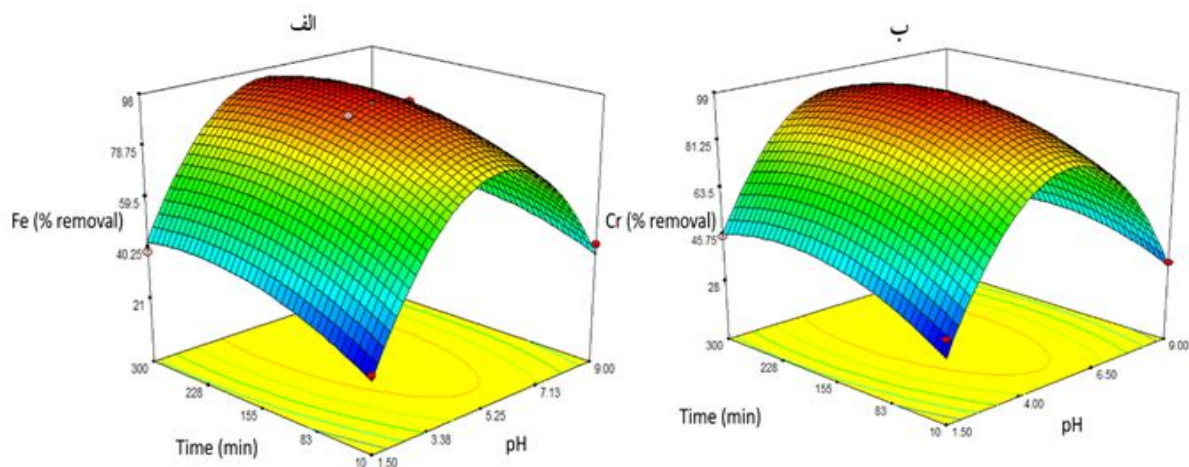
به‌منظور بررسی نتایج تجربی به‌دست‌آمده با کمک نرم‌افزار مدل‌های مختلفی بر نتایج منطبق گردید. نتایج نشان داد که معادله درجه دوم تطابق خوبی با مدل مورد استفاده برای طراحی آزمون‌ها دارد. نتایج آماری مدل‌ها نیز تأیید کرد که مدل درجه دوم کمترین انحراف معیار، بیشترین R² و کمترین PRESS را دارد. بر اساس نتایج تجزیه

پایینی دارد (Spiteri *et al.*, 2006 Morgan and Lahav, 2007). به طور کلی در سیستم‌های تصفیه آب یا رزین‌های مربوط به جذب آهن تلاش بر این است تا اکسید آهن II تشکیل شود تا با حداکثر میل جذب سطحی با ماده‌های جاذب بتوان غلظت آهن را در سیستم‌های آبی کاهش داد (Spiteri *et al.*, 2006).

تأثیر زمان مجاورت ماده جاذب و فلز

جذب آهن و کروم در یک غلظت ثابت جاذب با افزایش زمان مجاورت تا زمان 200 دقیقه افزایش یافت ولی بعد از این زمان تغییرات چندانی مشاهده نشد (شکل 1 الف و ب). اساساً جذب ماده جذب‌شونده بر روس سطح جاذب سریع است اما زمانی که به غلظت تعادلی نزدیک می‌شود این سرعت کاهش می‌یابد. همان‌طور که در شکل 1 مشاهده می‌شود جذب فلزات در 10 دقیقه اول تیمار (نقطه آغازین نمودار) به‌طور قابل توجهی بالاست به طوری که بیش از 20 درصد فلز جذب می‌گردد؛ اما با گذشت زمان شیب نمودار زمان نسبت به درصد جذب به‌مرور کاهش یافت. در تحقیقات گذشته نیز دویخشی بودن نمودار جذب نسبت به زمان مشاهده شده است که در ابتدا نمودار دارای شیب بالایی بوده در حالی که با گذشت زمان شیب آن کاهش می‌یابد (Saeed *et al.*, 2005). کاهش سرعت جذب فلزات بر سطح ماده جاذب می‌تواند به دلیل ممانعت الکترواستاتیکی و نیروی دافعه بین یون‌های باردار جذب‌شده بر روی سطح زغال فعال تولیدی و یون‌های محیط باشد (El Nemr, 2009). همچنین کاهش سرعت انتشار مولکولی یون‌ها داخل توده ماده جاذب نیز می‌تواند باعث کاهش سرعت جذب یون‌های فلزی شود. علاوه بر این برهمکنش‌های الکترواستاتیکی در شرایط اسیدی (pH های نزدیک به 1) نیز تأثیر زیادی بر جذب سطحی می‌گذارد به طوری که جاذبه و دافعه بین سطح و یون‌ها را کنترل می‌کند (Malkoc and Nuhoglu, 2003).

تحقیق Low و همکاران (1993) جذب پایین فلزات در pH های بسیار اسیدی می‌تواند به دلیل رقابت یون هیدروژن و فلز در اشغال سایت‌های جذب باشد. به این معنی که در غلظت‌های بالای یون هیدروژن، بار مثبت سطح ماده جاذب افزایش یافته و در نتیجه جاذبه بین ماده جاذب و فلز کاهش می‌یابد. در مقابل با افزایش pH سطح، کمی بار منفی یافته و شرایط برای جذب فلز با بار مثبت بهبود می‌یابد (Coswami and Ghosh, 2005). در صورتی که pH بسیار افزایش یابد یون‌های فلزی به هیدروکسیدهای خود تبدیل شده و رسوب می‌کنند به این ترتیب جذب آنها کاهش می‌یابد (Pino *et al.*, 2006). در یک pH ثابت درصد جذب یون‌ها به تداخل ماده جاذب نیز وابسته است هرچه ماده جاذب دانسیته توده بیشتری داشته باشد خلل و فرج آن بیشتر بوده در نتیجه قدرت جذب آن بیشتر خواهد بود. به همین دلیل است که اغلب مواد جاذب مورد استفاده برای جذب فلزات سنگین پیش تیماری با اسید دارند تا تداخل آن‌ها افزایش یابد؛ بنابراین اکسید پوست انار با اسید غلیظ (همانند روشی که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت) بهتر از اکسید شدن آن با استفاده از دمای بالا می‌باشد (Aggarwal *et al.*, 1999). در رابطه با جذب یون کروم به‌طور کلی pH های اسیدی عملکرد بهتری دارند به طوری که کمترین میزان جذب در $pH > 8$ اتفاق می‌افتد. علاوه بر موارد ذکر شده می‌توان به این موضوع نیز اشاره کرد که ظرفیت شیمیایی یون‌های فلزی مانند کروم و آهن به pH وابسته است. هرچه شرایط غلظت یون هیدروژن بیشتر باشد در رابطه با Cr^{6+} به ترتیب یون‌های $HCrO_4^- < Cr_2O_7^{2-}$ و $CrO_4^{2-} < CrO_3^{2-}$ بیشتر می‌شود (Malkoc and Nuhoglu, 2003). در حالی که در محدوده 4-5/5 فرم غالب یون آهن اکسید آهن II خواهد بود که سرعت رسوب بالایی نیز دارد در حالی که در pH های بالاتر هیدروکسید آهن تشکیل می‌گردد و در pH های بسیار اسیدی احتمال تشکیل اکسید آهن III افزایش می‌یابد که قابلیت جذب سطحی

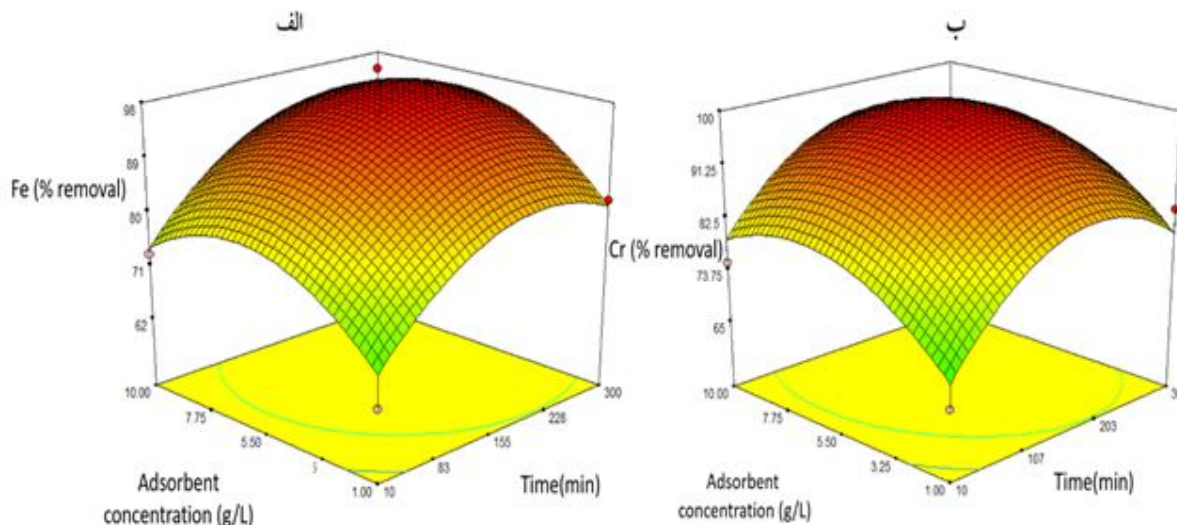


شکل 1- نمودار سه‌بعدی تأثیر pH و زمان بر درصد جذب (الف) فلز آهن با غلظت اولیه 100ppm و (ب) فلز کروم با غلظت اولیه 100 ppm

رسیدن به شیب ثابت یا همان تعادل واکنش کاهش می‌یابد. دلیل این امر می‌تواند افزایش ناحیه سطحی یا سطح ویژه جاذب باشد که با افزایش غلظت آن افزایش می‌یابد با توجه به هزینه تولید جاذب و همچنین هزینه‌های عملیاتی به‌منظور جداسازی جاذب از محیط آبی بهتر است که ماده جاذب در حداقل غلظت بهینه خود در نظر گرفته شود.

تأثیر غلظت جاذب بر درصد کاهش فلزات

تأثیر غلظت‌های مختلف جاذب (اکسید پوست انار) بر چگونگی کاهش فلزات آهن و کروم به‌ترتیب در شکل 2 الف و ب نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل 2 مشاهده می‌شود در شرایط یکسان بودن غلظت فلز (100 ppm) هرچه غلظت جاذب در محیط افزایش یابد سرعت جذب فلز به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش و زمان

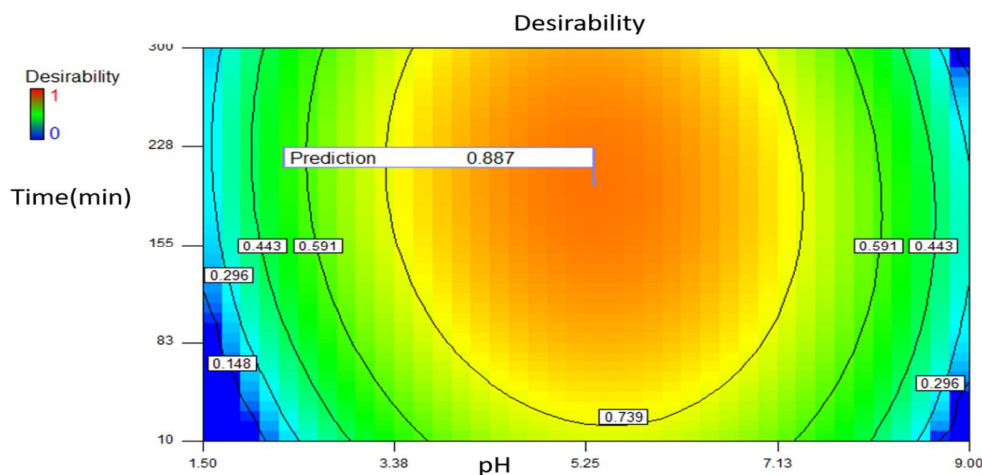


شکل 2- نمودار سه بعدی تأثیر زمان و غلظت جاذب بر درصد جذب (الف) فلز آهن با غلظت اولیه 100ppm و (ب) فلز کروم با غلظت اولیه 100 ppm

بیشترین مطلوبیت در شرایط $pH=5/3$ ، در زمان 200 دقیقه و غلظت ماده جاذب 2/5 گرم در لیتر به‌دست آمد. در چنین شرایطی مقدار جذب فلز آهن 88 و کروم 92 درصد بود.

بهینه‌سازی شرایط کاهش فلزات آهن و کروم توسط پوست انار اکسیدشده (جاذب)

شرایط بهینه برای کاهش فلزات آهن و کروم با غلظت اولیه 100ppm در شکل 3 آورده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود

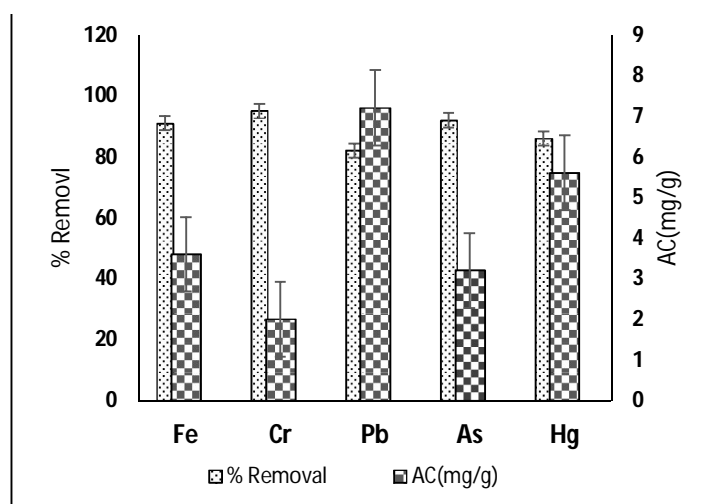


شکل 3- نمودار کانتور مطلوبیت شرایط بهینه در pH و زمان‌های مختلف با غلظت 2/5 گرم در لیتر از ماده جاذب

به دست آمده از درصد کاهش فلزات آهن و کروم در شرایط بهینه نشان داد که نتایج به دست آمده توافق خوبی با نتایج پیش بینی شده نشان می دهد. در رابطه با سایر فلزات سنگین ماده جاذب عملکرد مناسبی را نشان داد البته تفاوت در درصد کاهش فلزات تا حد زیادی به اندازه فلز و بار الکتریسیته سطحی آن وابسته است. به طوری که کمترین درصد کاهش فلز در رابطه با فلز سرب مشاهده شد.

جذب فلزات سنگین در شرایط بهینه

با استفاده از شرایط بهینه به دست آمده در مرحله قبل محلول های آبی سرب، جیوه، آرسنیک، آهن و کروم با غلظت اولیه 100 ppm تهیه گردید و با 2/5 گرم ماده جاذب (زغال فعال تولید شده از پوست انار) در دمای ثابت محیط تیمار گردید که نتایج درصد کاهش فلز و همچنین ظرفیت جذب زغال فعال در شکل 4 آورده شده است. مقادیر تجربی



شکل 4- درصد کاهش و توانایی جذب فلزات سنگین در مجاورت زغال فعال تولید شده (AC= adsorption capacity)

افزایش روشنایی روغن است اگرچه خاک رنگ بر تجاری به طور معنی داری عملکرد بهتری از زغال فعال تولیدی دارد.

جدول 3- مقدار رنگ روغن رنگ بری شده با زغال فعال تولیدی و خاک رنگ بر تجاری

رنگ	L	a	b
روغن خام	5/7±0/08 ^c	-1/3±0/04 ^b	0/2±0/02 ^c
روغن رنگ بری شده الف	7/7±0/08 ^b	-2/9±0/16 ^a	4/8±0/19 ^b
روغن رنگ بری شده ب	8/4±0/10 ^a	-3/1±0/09 ^a	1/5±0/11 ^a

مقدار a (قرمزی) روغن کنجد از 1/3- به 2/9- توسط زغال فعال تولیدی و به 3/1- توسط خاک رنگ بر تجاری کاهش یافت. کاهش شدت قرمزی توسط دو ماده جاذب تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند (p<0.05).

کاهش رنگ روغن

در این بخش از تحقیق توانایی زغال فعال تولیدی در کاهش رنگ و سایر خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن کنجد مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب که به 100 میلی لیتر از روغن کنجد 1 گرم از خاک رنگ بر تجاری و زغال فعال تولید شده از پوست انار اضافه گشت و رنگ بری در دمای 90 درجه سانتی گراد در خلالاً به مدت یک ساعت برای روغن انجام شد. دلیل انتخاب روغن کنجد در این تحقیق این است که روغن فوق بکر و بدون نیاز به تصفیه باشد تا بتوان بدون کوچکترین تغییر در روغن تأثیر زغال فعال تولیدی را بررسی نمود. همچنین تأثیر خاک بر خصوصیات روغن نیز مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج آن با روغن کنجد بکر و خاک رنگ بر تجاری مقایسه گردید که در ادامه آورده شده است.

مقدار رنگ روغن رنگ بری شده با زغال فعال تولیدی و خاک رنگ بر تجاری توسط دستگاه هانتر لب اندازه گیری گشت که نتایج آن در جدول 3 آورده شده است. L شدت روشنایی، a قرمزی (a- سبزی، a+ قرمزی) و b زردی (b- آبی، b+ زردی) را نشان می دهد. همان طور که در جدول 3 ستون 2 نشان داده شده است مقادیر L از 5/7 به 7/7 و 8/4 افزایش یافت که نشان دهنده اثرگذار بودن هر دو ماده رنگ بر در

به دلیل توزیع اندازه ذرات ماده جاذب، خلل و فرج آن، نوع ترکیب ماده جاذب به ویسکوزیته سیال و شرایط فرآیند مانند دما و زمان است (Tang et al., 2015; Hussin et al., 2001).

تأثیر رنگ‌بری بر ترکیب اسید چرب

تأثیر رنگ‌بری بر ترکیب اسیدهای چرب روغن کنجد در جدول 4 آورده شده است. اسیدهای چرب غالب روغن کنجد بدون تیمار شامل 45/09 درصد اولئیک اسید، 38/44 درصد لینولئیک اسید، 9/45 درصد پالمیتیک اسید، 3/2 درصد استئاریک اسید و 2/6 درصد لینولئیک اسید است که دارای نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع، 6/7 است. روغن رنگ‌بری شده با زغال فعال تولیدشده و خاک رنگ‌بر تجاری در اکثر اسیدهای چرب تفاوت معنی‌داری را نشان نداد که نشان‌دهنده عملکرد مشابه این ماده بر ترکیب اسیدهای چرب است. بعد از عملیات رنگ‌بری نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع روغن رنگ‌بری شده با زغال فعال تولیدی و خاک رنگ‌بر تجاری به ترتیب 8/96 و 9/09 را نشان داد که به معنای کاهش اسیدهای چرب اشباع و کوتاه زنجیره می‌باشد. رنگ‌بری با دو ماده جاذب متفاوت عملکرد نسبتاً مشابهی بر ترکیب اسیدهای چرب روغن کنجد گذاشته‌اند به طوری که بعد از عملیات رنگ‌بری نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اسیدهای چرب اشباع آن افزایش یافت. اسیدهای چرب اشباع چون دارای ساختار خطی می‌باشند ممکن است بتوانند در پیوندهای واندروالسی زیاد با ماده جاذب شرکت کنند درحالی‌که اسیدهای چرب دارای باند دوگانه به دلیل ممانعت فضایی و هندسی که دارند کمتر در این نوع پیوند با ماده جاذب مشارکت دارند. اگرچه Abedi و همکاران (2015) گزارش کرده‌اند که رنگ‌بری اثر معنی‌داری بر ترکیب اسیدهای چرب روغن سویا ندارد در حالی‌که در تحقیق دیگر (Kim and choe, 2005) نشان داده شده است که رنگ‌بری بر روی ترکیب اسیدهای چرب اثرگذار بوده و اغلب باعث کاهش اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در روغن کنجد می‌گردد.

شدت زردی یا مقدار b روغن کنجد بعد از رنگ‌بری با خاک رنگ‌بر تجاری و زغال فعال تولیدشده به ترتیب از 0/2 در روغن خام به 4/8 و 5/5 افزایش یافت که در این مورد نیز خاک رنگ‌بر به طور معنی‌داری عملکرد بهتری داشت.

به طور کلی می‌توان گفت که هر دو ماده رنگ‌بر به طور معنی‌داری شدت رنگ‌روغن را کاهش دادند. رنگ‌دانه‌ها و تیره بودن روغن اغلب نامطلوب بوده و بنا بر نیاز مصرف‌کننده اغلب روغن‌ها در حین تصفیه رنگ‌بری نیز می‌گردند (Choe and moon, 2005); بنابراین روشن‌تر بودن رنگ‌روغن کنجد مطلوب‌تر است یعنی هر چه مقدار L افزایش یابد رنگ‌بری مؤثرتر واقع شده است. در رابطه با کاهش شدت رنگ قرمزی تفاوت معنی‌داری در عملکرد دو نوع ماده جاذب رنگ‌بر وجود نداشت اما در رابطه با افزایش شدت رنگ زرد خاک رنگ‌بر تجاری عملکرد بهتری داشت. در طول فرآیند رنگ‌بری جذب رنگ از طریق مکانیسم‌های متفاوت فیزیکی و شیمیایی اتفاق می‌افتد (Skevin et al., 2012) که اغلب آن‌ها باعث افزایش کیفیت روغن می‌گردد این مکانیسم‌ها شامل جذب سطحی، جذب عمقی و فیلتراسیون است. در طی فرآیند جذب سطحی مواد از سه طریق با ماده جاذب برهمکنش می‌دهند.

(الف) از طریق پیوند واندروالسی جذب فیزیکی ماده جاذب می‌گردد.
(ب) از طریق پیوندهای الکتروشیمیایی به سطح ماده جاذب متصل می‌شود (شیمیایی).

(ج) ماده جاذب مانند پالایه عمل کرده و رنگ‌دانه‌ها تحت فشار به داخل منافذ کشیده می‌شوند.

زمانی که روغن در مجاورت ماده جاذب قرار می‌گیرد روغن به همراه آلایندهایی که در آن وجود دارد در منافذ جاذب وارد شده و در آن به دام می‌افتد بنابراین مقداری روغن و مقداری آلاینده (رنگ‌دانه) نیز به این طریق محبوس می‌شود البته در این رابطه هر چه روغن کمتری محبوس شود افت فرآیند رنگ‌بری کاهش می‌یابد. جذب عمقی

جدول 4- تأثیر رنگ‌بری بر ترکیب اسیدهای چرب روغن کنجد

روغن	جاذب رنگ‌بری **	* [%] ترکیب اسیدهای چرب					
		C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
	شاهد	0/18±0/05 ^a	9/45±0/08 ^a	3/20±0/07 ^a	45/09±1/72 ^a	38/44±0/08 ^a	2/64±0/02 ^a
کنجد	A	مشاهده نشده	8/12±0/10 ^b	1/92±0/06 ^a	45/26±1/23 ^a	42/10±0/95 ^a	2/60±0/03 ^a
	B	مشاهده نشده	7/64±1/01 ^b	2/27±0/04 ^a	46/89±1/42 ^a	41/26±1/05 ^a	1/94±0/03 ^b

* نتایج به صورت میانگین دو تکرار ± انحراف از معیار نمایش داده شده است.
حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری (p ≤ 0.05) است.

** A روغن رنگ‌بری شده با زغال فعال تولیدی از پوست انار، B روغن رنگ‌بری شده با خاک رنگ‌بر تجاری

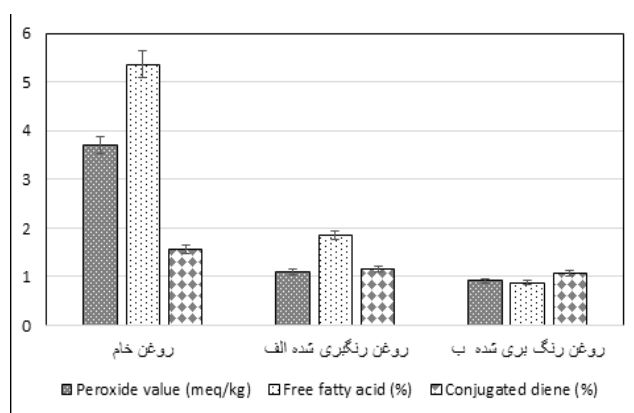
اسیدهای چرب آزاد در حفرات ماده جاذب باشد (Marrakchi *et al.*, 2017)؛ که البته در این رابطه خاک رنگ بر تجاری عملکرد بهتری داشت. لازم به ذکر است که هدف کاهش حداکثر مقدار اسیدهای چرب آزاد بود زیرا این ترکیبات باعث تولید مواد موتاژنیک در طول سرخ کردن و همچنین تسریع اکسیداسیون روغن می‌شوند (Mestre, *et al.*, 2011). در رابطه با ترکیبات پراکسید و دی‌ان‌های کنجوگه که هر دو معیاری از واکنش اکسید شدن روغن می‌باشند فرآیند رنگ‌بری به‌طور مؤثری توانست مقدار آن‌ها را در روغن کاهش دهد همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شده است. تجزیه این ترکیبات در مجاورت ماده جاذب دلیل کاهش آن‌ها در طی فرآیند رنگ‌بری است که هر دو ماده جاذب عملکرد مشابهی دارد.

تأثیر رنگ‌بری بر اسید چرب آزاد، اندیس پراکسید، دی‌ان کنجوگه

مقدار اسید چرب آزاد برحسب اولئیک اسید روغن کنجد بعد از تیمار رنگ‌بری با هر دو نوع ماده جاذب به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($p \leq 0.05$) اگرچه خاک رنگ بر تجاری باعث کاهش 83 درصد اسید چرب آزاد روغن شده است در حالی که زغال فعال تولیدی باعث کاهش 65 درصدی اسید چرب آزاد روغن کنجد شده است.

در رابطه با ترکیبات پراکسید و دی‌ان کنجوگه فرآیند رنگ‌بری به‌طور معنی‌داری آن‌ها را کاهش داد و عملکرد هر دو جاذب در رابطه با کاهش پراکسید و دی‌ان کنجوگه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($p \leq 0.05$).

در طی فرآیند رنگ‌بری مقدار اسیدهای چرب آزاد در نمونه کاهش یافت که این کاهش می‌تواند به دلیل هیدرولیز یا جذب سطحی



شکل 5- تأثیر رنگ‌بری بر کاهش ترکیبات نامطلوب روغن

در جدول 6 آورده شده است همان‌طور که در جدول ستون دوم مشاهده می‌شود بیشترین فلز موجود در روغن آهن می‌باشد که بعد از رنگ‌بری به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($p < 0.05$).

تأثیر رنگ‌بری با زغال فعال تولیدی و خاک رنگ‌بر تجاری بر کاهش فلزات سنگین

مقدار فلزات سنگین موجود در روغن کنجد خام و رنگ‌بری شده با دو ماده جاذب خاک رنگ‌بر تجاری و زغال فعال تولیدشده از پوست انار

جدول 6- تأثیر رنگ‌بری با زغال فعال تولیدی (الف) و خاک رنگ‌بر تجاری (ب) بر کاهش فلزات سنگین (mgkg^{-1})

فلز	روغن کنجد خام	روغن کنجد رنگ‌بری شده	روغن کنجد رنگ‌بری شده
Fe	$38/5 \pm 2/3^a$	$4/36 \pm 0/32^b$	$5/44 \pm 0/28^c$
Pb	$0/85 \pm 0/06^a$	$0/34 \pm 0/02^b$	$0/17 \pm 0/03^c$
AS	$0/013 \pm 0/00^a$	$0/05 \pm 0/01^b$	$0/04 \pm 0/02^b$
Hg	$0/064 \pm 0/02^a$	$0/05 \pm 0/01^b$	$0/04 \pm 0/01^b$

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0.05$).

آهن شده است. در رابطه با فلزات سرب نیز نتایج مشابهی به‌دست آمد. زغال فعال تولیدی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش بیشتر فلز سرب در

البته زغال فعال تولیدی باعث کاهش 88 درصدی فلز آهن در روغن شد در حالی که خاک رنگ‌بر تجاری باعث کاهش 70 درصدی

آلی (روغن) می‌گردد. البته نتایج بررسی کاهش فلزات در محیط آبی نیز مؤید این موضوع است.

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد که کربن فعال تولیدشده از تیمار شیمیایی پوست انار ماده جاذب مؤثری برای کاهش فلزات سنگین مانند آهن، کروم، سرب، آرسنیک و جیوه از محلول آبی است. فرایند جذب تابعی از غلظت ماده جاذب، pH محیط و زمان مخلوط کردن است. pH مؤثر برای کاهش فلزات در محدوده 5/3 است. تعادل در فرایند جذب در زمان 200 دقیقه اتفاق می‌افتد. با توجه به نتایج حاصل از رنگ‌بری روغن می‌توان گفت که زغال فعال تولیدشده از پوست انار علاوه بر کاهش مؤثر رنگ‌دانه‌ها، محصولات حاصل از اکسیداسیون و اسید چرب آزاد می‌تواند فلزات سنگین مانند سرب، جیوه و فلزاتی مانند آهن که باقی ماندن آن در روغن باعث تشدید اکسیداسیون آن می‌گردد را کاهش دهد. علاوه بر این ماده می‌تواند در کاهش باقی‌مانده کاتالیزورهای فلزی که در مراحل تصفیه روغن استفاده می‌شود نیز مؤثر واقع شود.

روغن شده است. عملکرد دو ماده جاذب در رابطه با فلزات آرسنیک و جیوه مشابه بوده و تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد ($p > 0.05$) که می‌تواند به دلیل پایین بودن مقدار اولیه آن‌ها در روغن خام باشد. طبق گزارش (Angelova, 2005) بیشتر مقدار فلزات سنگین مانند سرب، مس، روی، کادمیوم در روغن بادام زمینی مشاهده شده است. درحالی‌که کنگد و آفتابگردان کمترین میزان فلزات سنگین را دارد. تحقیق مشابه دیگری نیز این موضوع را تأیید کرده است که روغن کنگد مقدار فلزات کمتری نسبت به سایر روغن‌های خوراکی دارد (Zhu et al., 2011).

نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق نشان داد که مقدار فلزات سنگین در روغن کنگد مورد بررسی بسیار کم است که در توافق خوبی با نتایج تحقیقات قبلی می‌باشد. فرایند رنگ‌بری با هر دو نوع ماده جاذب نیز به‌طور معنی‌داری باعث کاهش فلزات سنگین گشت. البته در رابطه با اغلب فلزات عملکرد ماده جاذب تولید شده از پوست انار بهتر از خاک رنگ‌بر تجاری بود که این تفاوت می‌تواند به دلیل نوع ترکیب شیمیایی متفاوت زغال فعال تولیدی از کانی‌های موجود در خاک رنگ‌بر تجاری باشد. دلیل احتمالی دیگر آن می‌تواند برهمکنش الکتروستاتیک بین زغال فعال تولیدی و فلزات باشد که باعث حذف مؤثر آن‌ها از محیط

منابع

- جهرمی، م.، نیاکوثری، م.، شریفی، ا.، کلانتری، م. (1393). بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پودرهای شیره انگور و خرما و عصاره انجیر خشک‌شده در یک خشک‌کن غلتنکی. نشریه‌ی نوآوری در علوم و فناوری غذایی، 7 (3)، 85-93.
- مهریزی، ر.، امام‌جمعه، ز.، شاهدی، م.، لونی، ا.، اخوان، ح.، بیابانی، ج. (1394). شناسایی کمی و کیفی آنتوسیانین‌ها در عصاره پوست انار، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، 49، 52-59.
- Abedi, E., Sahari, M.A. Barzegar, M., & Hossein Azizi, M., 2015, Optimisation of soya bean oil bleaching by ultrasonic processing and investigate the physico-chemical properties of bleached soyabean oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 50, 857-863.
- Afaq, F., Saleem, M., Krueger, C.G., Reed, J.D. & Mukhtar, H, 2005, Anthocyanin and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF-kappaB pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *International Journal of Cancer*, 113, 423-433.
- Alam, M., Nadeem, R. & Idress Jilani, M., 2012, Pb (II) removal from wastewater using Pomegranate waste biomass. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 1, 24-29.
- Angelova, V., Ivanova, R., adka, b. & Ivanov, K., 2005, Heavy Metal Accumulation and Distribution in Oil Crops. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 35, 2551-2566.
- AOAC, 2016, official methods of analysis of aoac international 20th edition. Association of Official Agricultural Chemists.
- AOCS, 2007, Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign, Ill, AOCS.
- Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R. & Hayek, T., 2008, Pomegranate juice consumption reduces oxidativ stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *American Journal of Clinical Nutrition*, 51, 76-79.
- Aviram, M., Volkova, N., Coleman, R., Dreher, M., Reddy, M.K., Ferreira, D. & Rosenblat, M., 2008, Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein e-deficient (E 0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1148-1157.
- Bansal, R.C. & Goyal, M., 2005, Activated Carbon Adsorption. CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, 128-132.

- Bhatnagar, A. & Minocha, A.K., 2010, Biosorption optimization of nickel removal from water using *Punica granatum* peel waste. *Biointerfaces*, 76, 544–548.
- Celik, I., Temur, A. & Isik, I., 2009, Hepato protective role and antioxidant capacity of pomegranate (*Punica granatum*) flowers infusion against tri chloro acetic acid- exposed in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 145–149.
- Choe, E.O. & Moon, S.Y., 1994, Effects of filtration or centrifugation on the oxidative stabilities of sesame oil. *Agricultural chemistry & biotechnology*, 37, 168–74.
- Coswami, S. & Ghosh, U.C., 2005, Studies on adsorption behavior of Cr (VI) onto synthetic hydrous stannic oxide. *Water SA*, 31, 597–602.
- El-Ashtoukhy, E., Amin, N. & Abdelwahab, O., 2008, Removal of lead (II) and copper (II) from aqueous solution using pomegranate peel as a new adsorbent. *Desalination*, 223, 162–173.
- El-Nemr, A., 2009, Potential of pomegranate husk carbon for Cr (VI) removal from wastewater: Kinetic and isotherm studies. *Journal of Hazardous materials*, 16, 1132–1141.
- Ganesan, V., Rosentrater, K. A. and Muthukumarappan, K., 2008, Flowability and handling characteristics of bulk solids and powders – a review with implications for DDGS. *Biosystems Engineering*, 101, 425–435.
- Hussin F., Kheireddin M. & Wandaud W., 2001, Textural Characteristics, Surface Chemistry and Activation of Bleaching Earth. *Journal of Chemical Engineering*, 170, 90–106.
- IUPAC, 1998, Standard Method-Oil – Scribd of International Union of Pure and Applied Chemistry.
- Kaynak G., Ersoz M & Kara H., 2004, Investigation of the Properties of Oil at The Bleaching Unit Of an Oil Refinery. *Journal of Colloid and Interface Science*, 280, 131–138.
- Kim, I. & Choe, E., 2005, Effects of Bleaching on the Properties of Roasted Sesame Oil. *Journal of Food Science*, 70, 48–52.
- Low, K.S., Lee, C.K. & Lee, K.P., 1993, Sorption of copper by dye-treated oil-palm fibers. *Bioresource Technology*, 44, 109–112.
- Lu, J., Yuan, Q., 2008, A new method for ellagic acid production from pomegranate husk. *Journal of Food Process Engineering* 31, 443–454.
- Malkoc, E. & Nuhoglu, Y., 2003, The removal of chromium (VI) from synthetic wastewater by *Ulothrix zonata*, *Fresenius Environmental Bulletin*, 12 (4), 361–376.
- Marrakchi, F., Bouaziz, M. & Hameed B.H., 2017, Activated carbon–clay composite as an effective adsorbent from the spent bleaching sorbent of olive pomace oil: Process optimization and adsorption of acid blue 29 and methylene blue. *Chemical Engineering Research and Design*, 53, 88–91.
- Mestre, A.S., Bexiga, A.S., Proença, M., Andrade, M., Pinto, M.L., Matos, I., Fonseca, I.M. & Carvalho, A.P., 2011, Activated carbons from sisal waste by chemical activation with K₂CO₃: Kinetics of paracetamol and ibuprofen removal from aqueous solution. *Bioresource Technology*, 102, 8253–260.
- Morgan, B. & Lahav, O., 2007, the effect of pH on the kinetics of spontaneous Fe (II) oxidation by O₂ in aqueous solution – basic principles and a simple heuristic description. *Chemosphere*, 68, 2080–2084.
- Pai, V., Chanu, T.R., Chakraborty, R., Raju, B., Lobo, R. & Ballal, M., 2011, Evaluation of the antimicrobial activity of *Punica granatum* peel against the enteric pathogens: an invitro study. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 42, 57–62.
- Pillai, M.G., Regupathi, I., Kalavathy, M.H., Murugesan, T. & Miranda, L.R., 2009, Removal of hazardous heavy metals from aqueous environment by low-cost adsorption materials. *Journal of Chemical and Technological Biotechnology*, 84, 291–296.
- Pino, G.H., de Mesquita, L.M.S., Torem, M.L. & Pinto, G.A.S., 2006, Biosorption of cadmium by green coconut shell powder. *Mining Engineering*, 32, 77–81.
- Saeed, A., Akhter, M.W. & Iqbal, M., 2005, Removal and recovery of heavy metals from aqueous solution using papaya wood as a new biosorbent, *Purification Technologies*, 45, 25–31.
- Seeram, N.P., Lee, R. & Heber, D., 2004, Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 348, 63–68.
- Skevin, D., Domijan, T., Kralji, K., Gajdo, J., Neleral, S., and Obranova, M., 2012, Optimization of Bleaching Parameters for Soybean Oil. *Food Technology and Biotechnology*, 50 (2), 199–207.
- Spiteri, C., Regnier, P., Slomp, C.P., & Charette, M.A. (2006). pH- dependent iron oxide precipitation in a subterranean estuary. *Journal of Geochemical Exploration*, 88, 399–403.
- Tang J., Mu B., Maosung Z. & Wang A., 2015, One-Step Calcination of the Spent Bleaching Earth for the Efficient Removal of Heavy Metal Ions. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 39, 115–119.
- Zahin, M., Aqil, F. & Ahmad, I., 2010, Broad spectrum antimutagenic activity of antioxidant active fraction of *Punica granatum* L. *peel extracts*. *Mutation Research*, 703, 99–107.
- Zhu, F., Fan, W., Wang, X., Qub, L. & Yao, S., 2011, Health risk assessment of eight heavy metals in nine varieties of edible vegetable oils consumed in China. *Food and Chemical Toxicology*, 49 3, 081–3085.

Evaluation of pomegranate peel carbon potential as a adsorbent of pigment and bi and trivalent metals in liquid media

N. Hadigol¹, M. Fahim Danesh^{2*}, S. Hoseini³

Received: 2017.11.23

Accepted: 2019.04.23

Introduction: Pomegranate peel is an important source of bioactive compounds which have high potential of alternative source of activated carbon for bleaching and the removal of heavy metal from liquid media. The present study was undertaken to evaluate the feasibility of pomegranate peel carbon for the removal of heavy metal from oil and aqueous solution and then to investigate its activity in the bleaching of sesame oil.

Materials and methods: Response surface methodology and Box-Behnken design were applied to study and optimize the adsorption condition to remove metal ions on prepared pomegranate peel adsorbent. For this purpose, the effects of three independent variable pH(X1), contact time (X2) and adsorbent dose (X3) on metal ions concentration (dependent variable) were studied using a three-level three-factor Box–Behnken design. In addition, different types of adsorbents (pomegranate peel carbon and activated earth) were tested for adsorption of pigment, peroxides and heavy metals of sesame oil.

Results and discussion: Results showed that optimum condition required for maximum adsorption were found to pH= 5.3, equilibrium time 200 min and adsorbent concentration 2.5 g/L. Under the optimal conditions the removal of heavy metals i.e. Fe, Cr, Pb, as and Hg from aqueous solution by activated carbon developed from pomegranate peel are more than 80%. Results of sesame oil bleaching with pomegranate peel carbon showed good bleaching efficiency and oxidative stability. Furthermore, pomegranate peel carbon comparing with bleaching earth showed better ability to decrease heavy metal content of oil.

Keywords: Adsorbent, Heavy metals, Pomegranate peel, Sesame oil

1 and 2. MSc student and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University-Tehran- Iran.

3. Ph.D, Lecturer, Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University-Tehran- Iran.

(*Corresponding Author Email: m.Fahimdanesh@Qodsiau.ac.ir)

تأثیر کنسانتره آب نارنج و پوشش خوراکی کیتوزان غنی شده با اسانس فلفل سیاه بر بهبود خواص آنتی‌اکسیدانی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

فهمیه توریان^{1*} - مریم عزیزخانی²

تاریخ دریافت: 1397/02/29

تاریخ پذیرش: 1398/01/17

چکیده

تمایل به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی و جایگزین کردن آنها به جای نگهدارنده‌های شیمیایی سبب گردیده است مطالعات مختلفی در مورد ترکیبات طبیعی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و میکروبی مانند اسانس‌ها صورت پذیرد. در پژوهش حاضر اثرات کنسانتره آب نارنج و پوشش کیتوزان حاوی اسانس فلفل سیاه بر فساد شیمیایی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در یخچال مورد سنجش قرار گرفت. نمونه‌ها به 8 گروه تقسیم شدند و در دوره زمانی 12 روزه شاخص‌های pH، بازهای نیتروژنی فرار، تیوباریتوریک اسید، میزان پراکسید، اسیدهای چرب آزاد و ارزیابی حسی مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین نمونه‌ها از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) و RP (قدرت احیاکنندگی) ارزیابی گردیدند. با بررسی نتایج مشخص گردید که نمونه شاهد نسبت به سایر تیمارها به صورت معناداری افزایش روند شاخص‌های اکسایشی و حسی را نشان داد و در نمونه‌های پوشش داده شده نیز نمونه ماهی دارای کیتوزان، کنسانتره آب نارنج و اسانس فلفل سیاه کمترین میزان شاخص‌ها را نسبت به بقیه به خود اختصاص داد. از نظر مهار رادیکال DPPH، کنسانتره آب نارنج با بریکس 1/39 و درصد مهار 66/9% و اسانس فلفل 2% با درصد مهار 64/1% توانایی بیشتری داشته‌اند. در بررسی فساد اکسایشی و ارزیابی حسی در تمامی آزمون‌ها نمونه کیتوزان به همراه اسانس فلفل و کنسانتره آب نارنج با کسب امتیاز 7/2 از پانل ارزیابی حسی بهتر از سایر تیمارها ارزیابی شد. نتایج حاصله نشان‌دهنده تأثیر مثبت کنسانتره آب نارنج و پوشش کیتوزان دارای اسانس فلفل سیاه در مدت زمان نگهداری بر کیفیت فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی حسی، فلفل سیاه، کیتوزان، ماهی قزل‌آلای نارنج

مقدمه

باکتریایی و حفظ کیفیت مطلوب مورد استفاده قرار می‌گیرند به دلیل اثرات سرطان‌زایی این ترکیبات و تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی، در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در مورد به‌کارگیری مواد طبیعی به‌منظور حفظ کیفیت و ماندگاری مواد غذایی انجام گرفته است (Sathivel, 2005). گیاه نارنج (*Citrus aurantium L.*) بومی جنوب غربی آسیا است و دارای میوه‌ای گرد و اسیدی است. 85% میوه نارنج را آب تشکیل داده است، آب نارنج در مرکز و جنوب غرب ایران و کشورهای نواحی خلیج فارس به‌عنوان یک افزودنی اصلی در برخی مواد غذایی به‌شمار می‌رود، آب نارنج را با تغلیظ سازی به روش حرارتی به کنسانتره با بریکس‌های مختلف 20%، 30%، 40% و 50% تولید می‌کنند، با توجه به استعداد بالقوه ایران به‌منظور کشت مرکبات و شرایط اقلیمی مناسب، مناطق مرکبات خیز ایران مانند مازندران و گیلان، آب میوه نارنج را به روش سنتی با استفاده از حرارت بالا و یسکوزیته می‌کنند و به‌عنوان افزودنی در مواد غذایی خود استفاده می‌کنند که کنسانتره آن دارای اسیدیته بالایی می‌باشد (Amiri and Niakousari, 2008). اسانس‌های گیاهی از گذشته‌های دور به‌عنوان مواد طعم‌دهنده مورد استفاده قرار

ماهی و محصولات دریایی منبع پروتئینی عالی برای رژیم غذایی انسان محسوب می‌شوند. علاوه بر این، این فرآورده غذایی دارای میزان بالایی از ویتامین‌های محلول در آب و محلول در چربی، مواد معدنی و اسیدهای چرب غیراشباع امگا 3 می‌باشد (Sallam, 2007). علی‌رغم ارزش غذایی بالایی که ماهی دارد از غذاهای بسیار فسادپذیر می‌باشند که نسبت به گوشت قرمز و مرغ سریع‌تر دچار فساد می‌شود. همچنین در زمان نگهداری ماهی در یخچال تغییراتی نامطلوب شامل اکسیداسیون لیپیدها و رشد میکروبی صورت گرفته که سبب افت کیفیت محصول می‌گردد. از این‌رو استفاده از ترکیباتی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی در جهت بهبود کیفیت و افزایش زمان نگهداری ماهی ضرورت دارد (Sallam et al., 2007; Mexis et al., 2009). گرچه نگهدارنده‌های مصنوعی برای جلوگیری از رشد

1 و 2 - استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.

* - نویسنده مسئول: (Email: f.tooryan@ausmt.ac.ir)

جداسازی و شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده

برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های فوق با استفاده از اندیس بازداری (RI) طیف جرمی و مقایسه این مؤلفه‌ها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه و نرم‌افزار SATURN ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس مورد بررسی کمی و کیفی قرار گرفت (Azizkhani et al., 2012).

آماده‌سازی پوشش و تهیه تیمارها

برای تهیه پوشش از پودر کیتوزان تجاری استفاده گردید. محلول پوششی کیتوزان از انحلال پودر کیتوزان 2% در محلول اسید استیک 1% حجمی همراه با هم زدن تهیه گردید و گلیسرول نیز به‌عنوان پلاستی‌سایزر و توئین 80 به‌عنوان امولسیفایر به محلول اضافه گردید (Yingyuad et al., 2006). در نهایت اسانس و کنسانتره به‌عنوان آنتی‌اکسیدان به سوسپانسیون پوشش اضافه گردید. فیلدهای ماهی را به مدت 2 دقیقه در محلول آماده شده غوطه‌ور کرده و سپس از محلول خارج نموده آب‌چکانی و خشک کرده و سپس نمونه‌ها در بسته‌های پلاستیکی زیپ پک بسته‌بندی گردید. نمونه‌ها به مدت 12 روز در یخچال نگهداری شدند و در روزهای صفر، 4، 8 و 12 آزمون‌های شیمیایی و حسی بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. 6 گروه تیمار برای بسته‌بندی با استفاده از پوشش‌ها شامل نمونه با پوشش کیتوزان، نمونه با اسانس فلفل سیاه 2%، نمونه با پوشش کیتوزان و اسانس فلفل سیاه 2%، نمونه با کنسانتره آب نارنج (بریکس 1/39)، نمونه با کنسانتره (بریکس 1/39) آب نارنج و پوشش کیتوزان، نمونه با کنسانتره آب نارنج (بریکس 1/39) + پوشش کیتوزان + اسانس فلفل سیاه 2% می‌باشد نمونه شاهد (فیلدهای ماهی قزل‌آلا بدون پوشش به‌عنوان شاهد منفی) و نمونه BHT⁸ (به‌عنوان کنترل مثبت، BHT به میزان 2 میلی‌گرم در میلی‌لیتر اتانول حل گردید) در مجموع در این مطالعه 8 تیمار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

معرف مورد استفاده در این روش 2 و 2-دی فنیل-1-پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) می‌باشد. به این صورت که، به 500 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس محلول 0/004 درصد 2 و 2-دی فنیل-1-پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) در متانول اضافه گردید. سپس بعد از 30 دقیقه نگهداری در یک مکان تاریک در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 517 نانومتر خوانده شد.

می‌گرفتند امروزه نشان داده شده که این مواد دارای فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Hosseini et al., 2009). فلفل سیاه گیاهی است علفی و دارای ساقه بی‌کرک که از تیره پیپراسه¹ است. برخی از ترکیبات استخراج شده از آن عبارتند از ترپینر²، بتاپینن³، آلفاپینن⁴، لینالئول⁵ و ترپینئول⁶ می‌باشد که دارای خواص ضدانقباضی، ضدعفونی‌کننده، آنتی‌باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، تب‌بر، مسهل و نظایر آن است (Newall et al., 1996). این ترکیبات دارای عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی زمانی که به پوشش‌های خوراکی اضافه می‌شوند به‌صورت تدریجی در سطح مواد غذایی آزاد می‌شوند و در نتیجه در مدت زمان بیشتری در مواد غذایی باقی می‌مانند. اضافه کردن اسانس‌ها به فیلم و پوشش خوراکی نه تنها سبب افزایش خواص ضد میکروبی پوشش‌ها می‌شوند بلکه استفاده از پوشش‌های خوراکی برای حفاظت از مواد غذایی به دلیل مزیت‌های آنها نسبت به مواد سنتتیک اخیراً افزایش قابل توجهی داشته است (Hafsa et al., 2016). ماهیت این پوشش‌ها، پروتئینی، لیپیدی و پلی‌ساکاریدی می‌باشد. از جمله این ترکیبات کیتوزان می‌باشد که دارای ویژگی‌های عملکردی همچون خصوصیات ضد میکروبی، تشکیل فیلم‌ها و پوشش‌های محافظ بافتی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. (Quintavalla and Vicini, 2002).

با توجه به مطالب فوق، هدف از این پژوهش ارزیابی اثر کنسانتره آب نارنج و پوشش کیتوزانی غنی شده با اسانس فلفل سیاه در افزایش زمان ماندگاری فیلدهای ماهی قزل‌آلا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهیان قزل‌آلای مورد استفاده در این مطالعه، از یک استخر پرورش ماهی در شهرستان آمل خریداری گردید و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید و پس از سرزنی و تخلیه شکمی، فیلدهای ماهی گردید.

اسانس فلفل سیاه تجاری از شرکت اکسیر گل سرخ خریداری گردید. آب نارنج نیز از بازار محلی آمل خریداری گردید و کنسانتره آب نارنج از آن تهیه شد. DPPH⁷ از شرکت سیگما آلدریج آلمان و سایر مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این آزمایش از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

- 1 Piperaceae
- 2 Terpinene
- 3 β - pinene
- 4 a- pinene
- 5 Linaleol
- 6 Terpineol
- 7 2,2-diphenyl picrylhydrazyl

8 Butylated hydroxyl toluene

تعیین میزان پراکسید (PV)⁴

ابتدا برای استخراج چربی 150 گرم فیله ماهی قزل آلا را با 250 میلی لیتر کلروفرم با دستگاه هموژنیزاتور هموژن گردید و با استفاده از یک صافی فیلتر گردید و در آن 105 °C برای به دست آوردن نمونه چربی قرار داده شد (Pearson, 1976). نمونه چربی به دست آمده برای آزمون های PV و FFA استفاده گردید.

برای تعیین میزان پراکسید ابتدا 0/3 گرم نمونه چربی با مخلوط کلروفرم - متانول (نسبت 7 به 3) در یک لوله آزمایش مخلوط گردید. سپس 0/05 میلی لیتر از آمونیوم تیوسیانات (10 میلی مولار) و کلرید آهن II به نمونه اضافه شد. سپس مخلوط به دست آمده به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و جذب نوری در 500 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری قرائت شد. پس از رسم منحنی استاندارد، با استفاده از فرمول زیر پراکسید به عنوان میلی اکی والان پراکسید در کیلوگرم چربی محاسبه گردید.

$$\text{Peroxide Value} = (A_s - A_b) \times m / 5.84 \times \text{mo} \times 2 \quad (2)$$

که در آن A_s : جذب نمونه، A_b : جذب بلانک، m : شیب منحنی کالیبراسیون، mo : وزن نمونه بر حسب گرم و 55/84 وزن اتمی آهن است (Shantha and Decker, 1994).

سنجش اسیدهای چرب آزاد (FFA)⁵

بدین منظور چربی استخراج شده از فیله ماهی قزل آلا در حلال (مخلوط مساوی حجمی از اتانول 96% خنثی شده و اتیل اتر) حل گردید. سپس چند قطره فنل فتالین 1% به عنوان شناساگر رنگی به آن اضافه گردید سپس محلول با سود 0/1 نرمال تیترو گردید. تا زمانی که رنگ صورتی ظاهر گردید، تیتراسیون ادامه یافت. مقدار اسید چرب آزاد از طریق رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{FFA} = V \times 28.2 \times 100 / W \times 1000 \quad (3)$$

در فرمول فوق، V حجم هیدروکسید سدیم مصرفی و W وزن نمونه چربی مصرف شده است (Pearson, 1976).

ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی از پانل 9 نفری آموزش دیده که تیمارها را بر اساس رنگ، بو و مقبولیت کلی مورد بررسی قرار دادند. جهت نمره دهی از یک مقیاس صفر تا 10 استفاده شد به نحوی که 10 بیشترین امتیاز و صفر کمترین امتیاز را داشت و محصول با امتیاز

بازدارندگی رادیکال های آزاد از رابطه ذیل محاسبه شد (Akowuah *et al.*, 2005).

$$= (A_c - A_s) / A_c \times 100 \quad (1)$$

A_s : میزان جذب نوری کنترل و A_c : قدرت جذب نوری غلظت های مختلف اسانس می باشد. در این تست از آنتی اکسیدان سنتزی BHT به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

تعیین خواص آنتی اکسیدانی به روش RP¹

تست ارزیابی قدرت احیاکنندگی به روش Huang و همکاران (2011) انجام شد و جذب نوری نمونه ها در طول موج 700 نانومتر در اسپکتروفتومتر، قرائت شد.

اندازه گیری pH گوشت

بدین منظور 5 گرم از نمونه گوشت ماهی با 10 میلی لیتر آب مقطر با هموژنیزاتور هموژن گردید و در نهایت pH نمونه با کمک دستگاه pH متر که در pH چهار و هفت استاندارد شده بود اندازه گیری شد (Sallam, 2007).

سنجش مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVN)²

برای انجام این تست، مقدار 10 گرم نمونه هموژن شده به همراه 2 گرم اکسید منیزیم به عنوان کاتالیزور و 300 میلی لیتر آب مقطر در داخل بالن کلدال قرار داده شد. بخارات تقطیر شده وارد محلول 3% اسید بوریک حاوی چند قطره معرف متیل رد شده و در پایان توسط اسید سولفوریک 5% تیترو شد. مقدار بازهای از ته فرار بر اساس مقدار اسید سولفوریک مصرف شده محاسبه گردید و به صورت میلی گرم نیتروژن در 100 گرم فیله ماهی بیان می شود (Jeon *et al.*, 2002).

اندازه گیری شاخص TBA³

10 گرم از نمونه ها در 1 میلی لیتر از BHT 0/1% و 20 میلی لیتر تری کلرو استیک اسید 5% به طور کامل هموژن و از کاغذ صافی واتمن شماره 42 عبور داده شد و مجدداً با تری کلرواستیک اسید به حجم 50 میلی لیتر رسانده شد. 5 میلی لیتر از مایع فیلتر شده به همراه 5 میلی لیتر تیوباربتوریک اسید 0/02 مولار با هم مخلوط و به مدت 1 ساعت در بن ماری 100 °C قرار داده شد و پس از خنک شدن میزان جذب نوری آن ها در طول موج 532 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Wrolstad *et al.*, 2005).

1 Reducing power
2 total volatile nitrogen
3 Thiobarbituric acid

4 Peroxide value
5 Free fatty acid

کمتراز 6 به‌عنوان محصول غیرقابل پذیرش تعریف گردید (Goulas and Kontominas, 2005).

نتایج و بحث

بررسی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز اسانس فلفل سیاه جدول 1 با دستگاه کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی (GC/MS)، 21 ترکیب شناسایی گردید که در مجموع 97/75 درصد از کل اسانس را تشکیل داد. بر اساس داده‌های آماری، ترکیبات عمده تشکیل‌دهنده اسانس شامل، بتا-کاربوفیلین (25/56%)، لیمونن (15/19%)، ساینین (12/2%)، آلفا-کوپائن (8/5%)، بتا-بیسابولن (7/81%) گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آنالیز آماری نمونه‌ها با نرم‌افزار SPSS V.20 انجام شد. قبل از آزمون آنالیز واریانس، ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و همگنی واریانس داده‌ها به‌وسیله آزمون لون (Levene) تست شد. مقایسه میانگین نمونه‌ها با استفاده از تست چنددامنه‌ای دانکن انجام گردید و مقادیر $(p < 0/05)$ سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

جدول 1- ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس فلفل سیاه با استفاده از GC/MS

ردیف	ترکیبات	درصد	RI
1	تری سیکلن	1/1	930
2	آلفا-پینن	6/5	941
3	کامفن	0/29	953
4	ساینین	12/2	975
5	بتا-پینن	5/68	980
6	میرسن	0/96	993
7	آلفا-فلاندرن	2/1	1007
8	آلفا-تریپینن	0/6	1020
9	لیمونن	15/19	1031
10	ترنس بتا اوسیمین	0/09	1052
11	گاما-تریپینن	0/81	1064
12	لینالول	0/45	1099
13	تریپینن-4 ال	2/3	1177
14	گاما-المن	0/67	1342
15	آلفا-کوپان	8/5	1365
16	بتا-کاربوفیلین	25/56	1420
17	آلفا-هومولن	1/7	1458
18	بتا-سیلینین	0/89	1488
19	آلفا-مورولن	0/9	1500
20	بتا-بی سابولن	7/81	1511
21	گاما-کادینین	3/45	1527
	جمع	97/75	

همکاران (2017) بر روی اسانس 2 نوع فلفل سیاه هند و بنگلادش انجام دادند به‌ترتیب 14 و 18 ترکیب شناسایی گردید که ترکیبات اساسی اسانس فلفل سیاه بنگلادشی شامل کاربوفیلین، آلفا پینن، D-لیمونن، بتاپینن و برای اسانس فلفل سیاه هندی 3-کارن،

Jeena و همکاران (2014)، 29 ترکیب برای اسانس فلفل سیاه گزارش کردند که عمده‌ترین ترکیبات اسانس عبارت بود از: کاربوفیلین، لیمونن، آلفاتریپینن، گاماتریپینن، کاربوفیلین اکسید، نفتالن، کوپان و المن (Jeena et al., 2014). در مطالعه‌ای که Aziz و

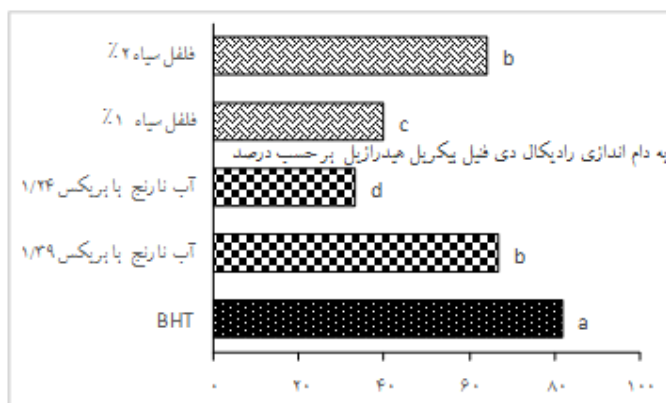
به‌گونه‌ای که با افزایش غلظت و بریکس، درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد تقریباً دو برابر شد. در این تست درصد مهارکنندگی رادیکال توسط BHT به‌عنوان کنترل مثبت، 81/9% بود و کنسنتره آب نارنج و اسانس فلفل در این تست نسبت به BHT ضعیف‌تر عمل کردند. اگرچه اثر آنتی‌اکسیدانی کنسنتره آب نارنج با بریکس 1/39 بیشتر از اسانس فلفل سیاه 2% گزارش شد ولی این اختلاف معنی‌دار نبود ($p < 0/05$) ولی نسبت به اسانس 1% و کنسنتره آب نارنج و با بریکس 1/24، به‌صورت معنی‌داری مهارکنندگی بیشتری را نشان داد ($p < 0/05$).

در مطالعه Jeena و همکاران (2014) اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس فلفل سیاه را مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند که با افزایش غلظت اسانس، اثر مهار رادیکال DPPH نیز افزایش یافته بود (Jeena et al., 2014) که مطالعه آن‌ها با نتایج ما مطابقت داشت.

D- لیمون، بتائین، کاربوفیلین و آلفاپینن اعلام گردید (Aziz et al., 2017). این تفاوت در نوع و میزان ترکیبات اسانس نشان‌دهنده تفاوت‌های جغرافیایی و شرایط زیست محیطی می‌باشد (Aziz et al., 2017) که در مطالعات انجام شده کاربوفیلین ترکیبات اسانس فلفل سیاه می‌باشد که در مطالعه حاضر نیز در آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس این ترکیب بیشترین درصد را به‌خود اختصاص داده است.

بررسی فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد با آزمون DPPH

توانایی مهار رادیکال‌های آزاد، توسط آزمایش DPPH ارزیابی گردید. با توجه به نتایج شکل 1، توانایی مهار رادیکال آزاد از بیشترین تا کمترین قدرت مهارکنندگی به‌ترتیب مربوط به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (81/9%)، آب نارنج با بریکس 1/39 (66/9%)، اسانس فلفل سیاه 2% (64/1%)، اسانس فلفل سیاه 1% (39/8%) و آب نارنج با بریکس 1/24 (33/1%) گزارش شد. همانطور که نتایج گویاست با افزایش غلظت اسانس و بریکس، قدرت مهار رادیکال افزایش یافت



شکل 1- فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد با آزمون DPPH

BHT، در این تست تقریباً برابر بود که این نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس فلفل سیاه 2% به همراه پوشش کیتوزان می‌باشد.

بررسی تغییرات pH

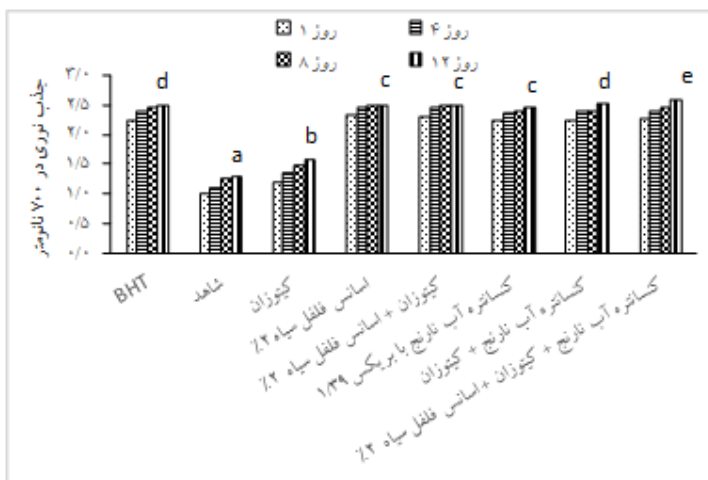
افزایش میزان pH در طی دوره نگهداری مربوط به تولید و تجمع ترکیبات آلی مانند آمونیاک، تری‌متیل آمین‌ها و همچنین دیگر آمین‌های بیولوژیک است که توسط فعالیت میکروبی باکتری‌های عامل فساد ماهی و آنزیم‌های خود ماهی تولید می‌شوند (Mexis et al., 2009; Özyurt et al., 2009). میزان pH در مدت زمان نگهداری افزایش کمی داشته و در ابتدای دوره، کاهش pH می‌تواند به علت افزایش CO₂ اتمسفر و تجزیه اسید کربنیک باشد

بررسی قدرت احیاکنندگی (RP)

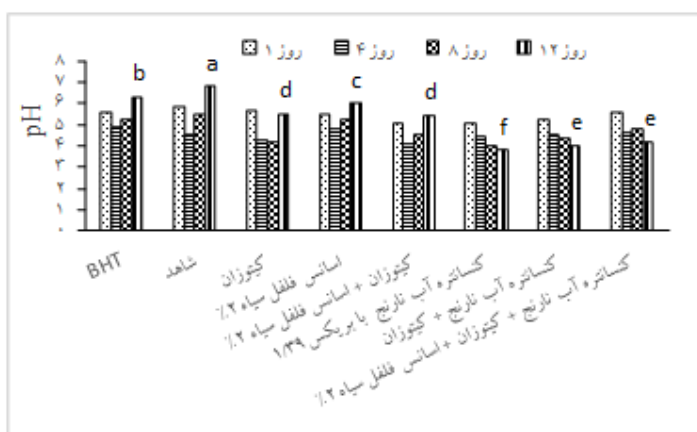
در این روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس توانایی احیا شدن یون فریک به یون فروس سنجیده می‌شود. در این تست (شکل 2) در مقایسه بین گروه‌ها در روز 12م، پوشش کیتوزان حاوی کنسنتره آب نارنج با بریکس 1/39 و اسانس فلفل سیاه 2% دارای بیشترین جذب نوری بود (2/58) که میزان جذب آن از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (2/4) نیز به‌طور معناداری بیشتر اعلام شد ($p < 0/05$). کمترین میزان جذب نوری در نمونه شاهد (1/28) مشاهده شد. ترکیباتی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند می‌توانند احیای آهن را افزایش دهند (Pourreza, 2013). بنابراین بالا بودن میزان جذب نوری نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای نمونه می‌باشد. میزان جذب نوری پوشش کیتوزان حاوی اسانس فلفل سیاه 2% در مقایسه با

پایین بودن میزان pH در گروه‌های تیمار شده را می‌توان با خاصیت ضدباکتریایی کیتوزان، اسانس فلفل سیاه و کنسانتره نارنج مرتبط دانست چرا که افزایش میزان pH با گذشت زمان را می‌توان به تولید ترکیباتی مانند آمونیاک و تری‌متیل آمین ناشی از فعالیت باکتری‌ها نسبت داد (Kostaki *et al.*, 2009).

(Gimenez *et al.*, 2002). بیشترین میزان pH در پایان دوره نگهداری برای گروه شاهد (6/8) و کمترین آن به ترتیب تیمار کنسانتره آب نارنج به تنهایی (3/8) و کنسانتره آب نارنج و کیتوزان (4) و کنسانتره آب نارنج و کیتوزان با اسانس فلفل سیاه 2% (4/2) بود (شکل 3) که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت ($p < 0/05$).



شکل 2- اثرات قدرت احیاکنندگی تیمارهای مختلف در فیله ماهی قزل‌آلا در دمای یخچال (4 ± 1 °C)



شکل 3- تغییرات میزان pH در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال (4 ± 1 °C)

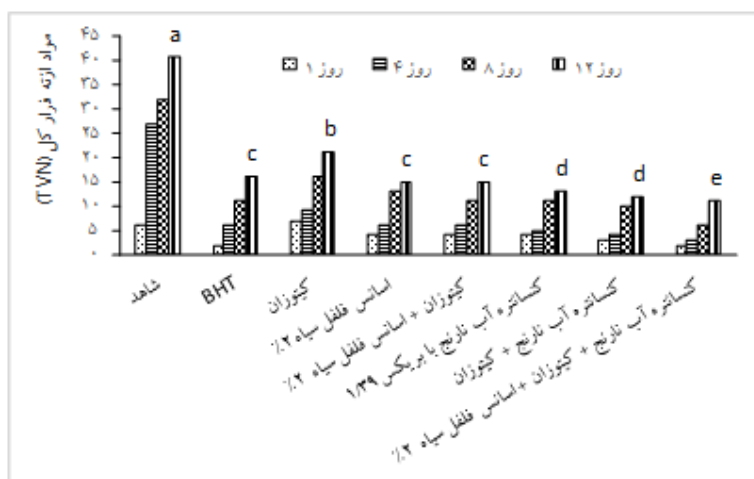
(2013). در این مطالعه میزان بازهای نیتروژنی فرار از روز یک تا پایان دوره نگهداری در روز دوازدهم یک روند افزایشی را نشان داده است (شکل 4). با توجه به نتایج این تحقیق، تفاوت معناداری در میزان TVN گروه شاهد با سایر تیمارها مشاهده شد ($p < 0/05$). به‌گونه‌ای که در روز پایانی بیشترین میزان این شاخص مربوط به گروه شاهد (41) بر اساس میلی‌گرم در 100 گرم و کمترین میزان در گروه فیله ماهی پوشش داده شده با کیتوزان حاوی کنسانتره آب نارنج و اسانس

بررسی تغییرات TVN

TVN به‌عنوان یک شاخص کیفیت به‌طور گسترده برای ارزیابی کیفیت ماهی استفاده می‌شود. افزایش آن مربوط به فعالیت‌های باکتری‌های عامل فساد و آنزیم‌های درونی می‌باشد. کاتابولیسم باکتریایی اسیدهای آمینه عضله ماهی منجر به تجمع آمونیاک، مونو، دی و تری‌متیل آمین، و دیگر بازهای فرار که مشخصه انتقال طعم ماهی است، می‌گردد (Duan *et al.*, 2010; Özogul *et al.*,)

ایجاد می‌گردد بنابراین، افزایش میزان بار باکتریایی را می‌توان دلیل افزایش این شاخص در طول دوره نگهداری دانست (Fan *et al.*, 2008). که شمارش میکروبی بالا در تیمار شاهد دلیلی بر میزان بالای TVN در این تیمار گزارش شد. نتایج مطالعه اجاق و همکاران (2010) نشان می‌دهد که پوشش کیتوزان حاوی اسانس دارچین در ماهی قزل‌آلا توانست به‌طور معنی‌داری میزان TVN را در انتهای مدت زمان نگهداری کاهش دهد (Ojagh *et al.*, 2010) که با مطالعه ما همخوانی داشت.

لفل سیاه قابل (11) بر اساس میلی‌گرم در 100 گرم مشاهده بود که این نتایج با مطالعات دیگر محققان در این زمینه همخوانی دارد (Goulas and Kontominas, 2007; Frangos *et al.*, 2010). مقدار قابل قبول TVN 25 میلی‌گرم در 100 گرم نمونه گزارش گردیده است (Kilincceker *et al.*, 2009). در مطالعه حاضر به‌جز گروه شاهد هیچ کدام از تیمارها تا روز 12 از حد مجاز تعیین شده فراتر نرفتند. این میزان برای گروه شاهد در روز 4 از محدوده مجاز بیشتر شد و در روز 12 به 41 میلی‌گرم در 100 گرم رسید. همان‌طور که عنوان گردید TVN به دنبال کاتابولیسیم باکتریایی گوشت ماهی

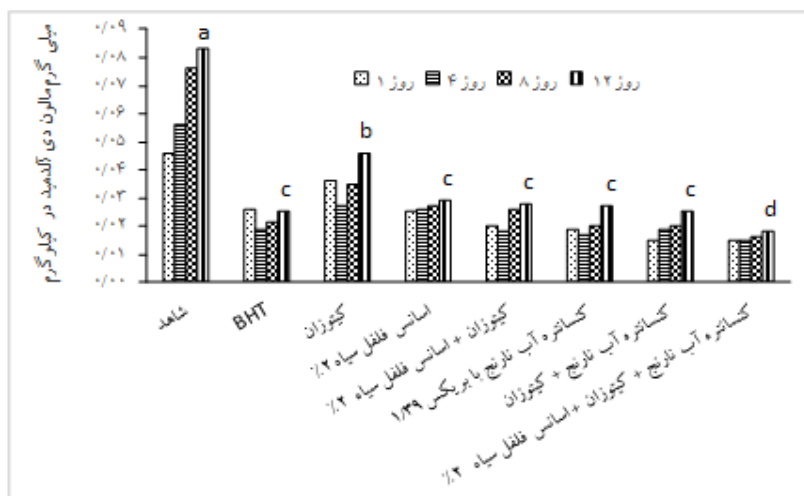


شکل 4- تغییرات میزان TVN در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال (4±1°C)

1-2 میلی‌گرم مالون آلدهید در هر کیلوگرم عنوان شده است (Lakshmanan, 2000) که در این تحقیق هیچ کدام از گروه‌ها در طول دوره نگهداری به این محدوده نرسیدند (شکل 5). در مدت زمان نگهداری همواره شاهد تفاوت معنی‌دار TBA بین گروه شاهد و سایر نمونه‌های تیمار شده بودیم ($p < 0/05$). همچنین میزان TBA در گروه فیله ماهی با پوشش کیتوزان حاوی کنسنتره آب نارنج و اسانس فلفل سیاه 2% (0/01) بر اساس میلی‌گرم مالون آلدهید در هر کیلوگرم بسیار کمتر از سایر گروه‌ها گزارش شد و تفاوت معنی‌داری نیز میان گروه مذکور با سایر گروه‌های تیمار شده وجود داشت ($p < 0/05$) که این موضوع می‌تواند در ارتباط با خاصیت آنتی‌اکسیدانی پوشش کیتوزان و کنسنتره آب نارنج و اسانس فلفل سیاه و اثر هم‌افزایی این عوامل دانست. این نتایج با دیگر گزارشات موجود در این زمینه مطابقت دارد (Chamanara *et al.*, 2012; Gao *et al.*, 2014).

بررسی تغییرات تیوباریتوریک اسید (TBA)

تیوباریتوریک اسید به‌عنوان شاخص نشان‌دهنده میزان مالون آلدهید که محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد، استفاده می‌شود. روند افزایش این شاخص در طول مدت نگهداری ممکن است مربوط به دهیدراتاسیون جزئی ماهی و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع باشد. همچنین افزایش میزان هیدروپراکسیدها می‌تواند منجر به افزایش آلدهیدها شود که از شکست هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند (de Azevedo Gomes *et al.*, 2003; Kilincceker *et al.*, 2009). روند افزایشی شاخص TBA در طول دوره نگهداری روند منظمی نبوده و در برخی از روزهای نگهداری کاهش در میزان تیوباریتوریک اسید مشاهده می‌شود که این کاهش می‌تواند به دلیل کاهش میزان هیدروپراکسید و واکنش میان مالون آلدهید با ترکیباتی چون پروتئین‌ها و اسیدآمینها فیله ماهی باشد که میزان مالون آلدهید و به دنبال آن میزان تیوباریتوریک اسید کاهش می‌یابد (de Azevedo Gomes *et al.*, 2003). میزان مجاز برای گوشت ماهی از نظر شاخص TBA حدود

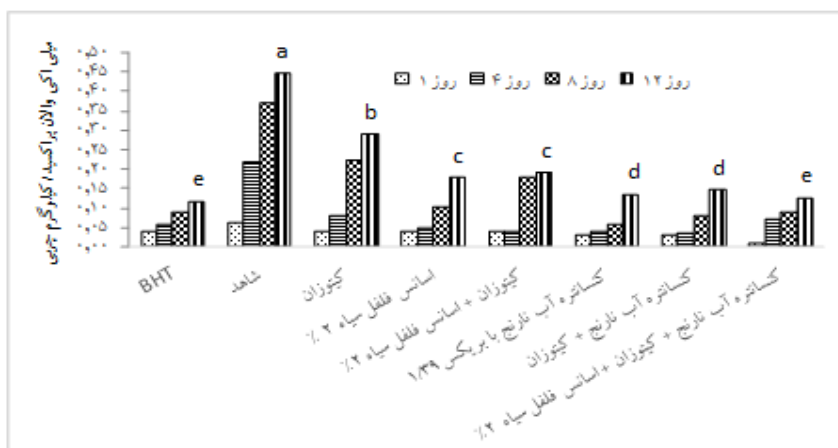


شکل 5- تغییرات میزان TBA در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال ($4 \pm 1^\circ\text{C}$)

می‌باشد که مربوط به گروه شاهد (0/4) میلی‌اکی والان پراکسید در یک کیلوگرم چربی بود و کمترین میزان این شاخص برای نمونه ماهی پوشش داده شده با کیتوزان حاوی اسانس فلفل سیاه 2% و تیمار شده با کنسانتره آب نارنج (0/12) میلی‌اکی والان پراکسید در یک کیلوگرم چربی بود. در مطالعه Gao و همکاران (2014) تیمار ماهی پوشش داده شده با اسانس رزماری و نیسین توانست میزان پراکسید را نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌داری کاهش دهد. اجاق و همکاران (2010) نیز گزارش کردند که پوشش کیتوزان و کیتوزان حاوی اسانس دارچین در کاهش تولید پراکسید در فیله ماهی قزل‌آلا موثر بوده است که نتایج به دست آمده با تحقیق محققان همخوانی داشت.

بررسی تغییرات PV

یک مشکل اصلی در غذاهای دریایی خصوصاً غذاهایی با میزان چربی بالا، اکسیداسیون چربی می‌باشد. در مرحله اول اکسیداسیون، تشکیل پراکسیدها به دلیل اتصال اکسیژن به پیوند دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع صورت می‌گیرد. هیدروپراکسید، محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چند غیراشباعی است به همین دلیل به منظور ارزیابی اکسیداسیون اولیه محصولات از شاخص پراکسید استفاده می‌شود (Lin and Lin, 2005). میزان اولیه پراکسید در محدوده 0/01 تا 0/06 میلی‌اکی والان پراکسید در یک کیلوگرم چربی بود که با نتایج نوذری و همکاران (2013) همخوانی دارد. نتایج نشان می‌دهد (شکل 6) که PV در همه نمونه‌ها به صورت صعودی افزایش یافته است و بیشترین میزان این شاخص در روز 12

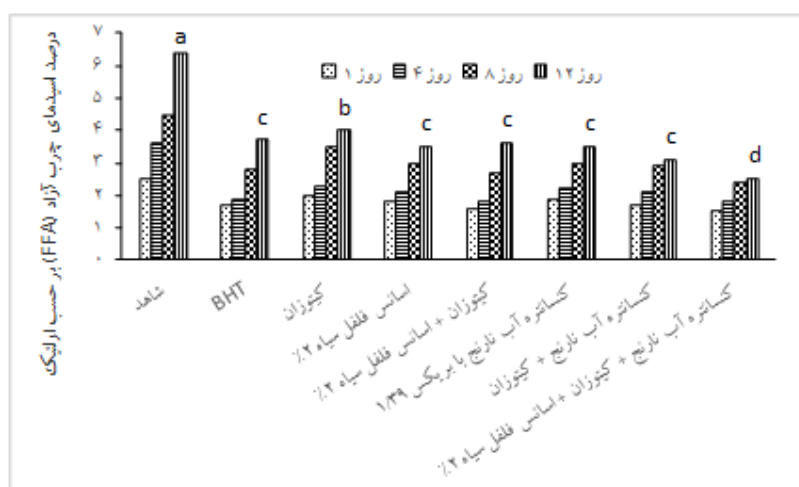


شکل 6- تغییرات میزان PV در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال ($4 \pm 1^\circ\text{C}$)

($p < 0/05$). میزان اولیه FFA از محدوده 1/5 تا 2/5 می‌باشد که با نتایج مطالعات دیگر در مورد میزان اولیه FFA گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تقریباً برابر می‌باشد (Rezaei et al., 2008). روند افزایش تدریجی FFA در همه گروه‌ها مشاهده شد که این امر به دلیل هیدرولیز فسفولیپیدها و تری‌گلیسریدها توسط لیپازها و فسفولیپازها می‌باشد (Nowzari et al., 2013). میزان تشکیل اسیدهای چرب آزاد در گروه‌های تیمار شده کمتر از گروه شاهد بود و گروه ترکیبی دارای پوشش کیتوزان حاوی کنسانتره آب نارنج و اسانس فلفل سیاه 2% با 2/5 درصد میزان اسیدچرب آزاد باعث ممانعت بیشتر از تشکیل اسیدهای چرب آزاد گردید.

بررسی تغییرات FFA

اگرچه تشکیل FFA به تنهایی منجر به افت کیفیت تغذیه‌ای محصول نمی‌گردد اما تجزیه چربی‌ها سبب تولید اسید چرب آزاد در طول ذخیره‌سازی می‌شود که این اسیدهای چرب آزاد بر اثر تغییرات به ترکیباتی که عامل بو و طعم نامطلوب در ماهی هستند تبدیل می‌شوند به همین دلیل ارزیابی این فاکتور در بررسی فساد ماهی حائز اهمیت می‌باشد (Lugasi et al., 2007; Rostamzad et al., 2010). همانند دیگر شاخص‌های شیمیایی مورد بررسی، میزان اسیدهای چرب آزاد در انتهای دوره نگهداری (شکل 7) در گروه شاهد از سایر گروه‌ها بیشتر بوده به‌گونه‌ای که در روز 12 نگهداری، این میزان به 6/4 رسید که این تفاوت با سایر گروه‌ها معنی‌دار بود

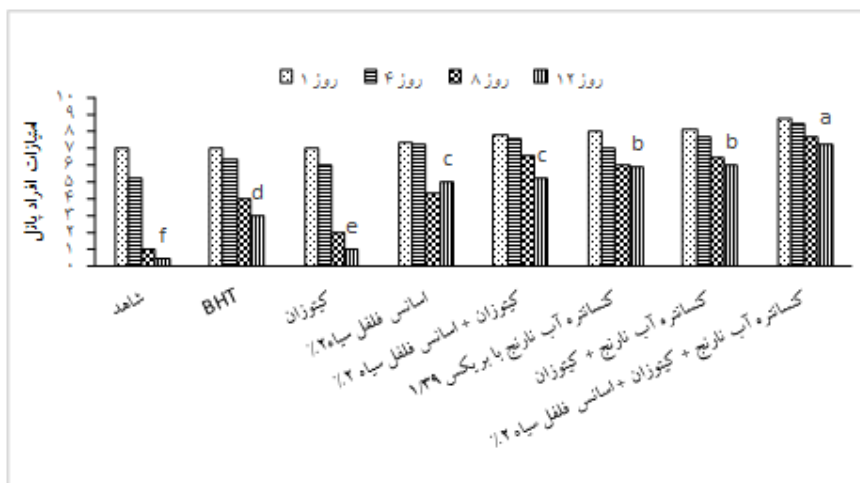


شکل 6- تغییرات میزان FFA در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال (1±0c)

($p < 0/05$). این نتایج، تائیدی بر نتایج TVN بود. نمونه پوشش داده شده با کیتوزان و تیمار شده با کنسانتره آب نارنج با میزان امتیاز 6 و نمونه حاوی کنسانتره آب نارنج با میزان امتیاز 5/9 به ترتیب نسبت به نمونه پوشش داده شده با کیتوزان حاوی اسانس فلفل سیاه با میزان امتیاز 5/2 و همچنین نسبت به نمونه حاوی اسانس فلفل سیاه با میزان امتیاز 5 دارای پذیرش بالاتری بودند اما اختلاف میان آنها معنادار نبوده است ($p < 0/05$). به جز گروه پوشش کیتوزان که با کنسانتره آب نارنج تیمار شده بود تا روز پایانی دارای مقبولیت کلی بود ولی سه گروه دیگر ذکر شده در روز 8 تا 12 از محدوده مورد نظر خارج گردیدند. نمونه BHT نیز در روز 8 تا 12 از نظر مقبولیت غیرقابل قبول گردید. نتایج این مطالعه با نتایج دیگر محققان همخوانی داشت (Ojagh, Rezaei et al. 2010).

ارزیابی حسی

متداول‌ترین روش بررسی تازگی ماهی، ارزیابی حسی بوده که روشی ساده برای دستیابی به اطلاعاتی در مورد کیفیت محصول می‌باشد. امتیاز، سه پارامتر مورد بررسی در ارزیابی حسی یعنی رنگ، بو، بافت ماهی طی دوره نگهداری به تدریج کاهش یافت (Sallam, 2007). امتیاز 6 به‌عنوان کمترین امتیاز قابل قبول از نظر مصرف در نظر گرفته شد و گروه‌هایی که دارای امتیاز کمتر از این بودند قابلیت پذیرش نداشتند. در روز 1، نمونه‌ها از نظر رنگ، بو، بافت و مقبولیت کلی امتیاز بالایی داشتند. در روز 4 گروه شاهد با میزان امتیاز 0/5 غیرقابل مصرف تشخیص داده شد در صورتی که نمونه پوشش داده شده با کیتوزان حاوی اسانس فلفل سیاه و کنسانتره نارنج با میزان امتیاز 7/2 تا پایان دوره نگهداری قابل قبول بودند به‌گونه‌ای که این گروه به‌طور معناداری دارای قابلیت پذیرش بالاتری از نظر رنگ، بو، بافت یا به‌عبارتی مقبولیت کلی بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشتند



شکل 7- تغییرات میزان ارزیابی حسی در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال ($4 \pm 1^\circ\text{C}$)

علاوه بر طعم‌دار کردن محصول، جهت بهبود طول عمر نگهداری استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی (گرنه شماره 8/383/پ) دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل انجام شده است، بدینوسیله از حمایت‌های مالی مدیر محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه تخصصی فناوری نوین آمل صمیمانه قدردانی می‌شود.

نتیجه‌گیری

از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که استفاده از پوشش سبب افزایش مدت زمان ماندگاری و حفاظت مواد غذایی در برابر عوامل بیرونی می‌شود لذا استفاده از پوشش به‌همراه ترکیباتی مثل اسانس فلفل سیاه 2% و کنسانتره آب نارنج که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده با مهار رادیکالی 66/9% و همچنین با دارا بودن خواص ضد میکروبی علیه انواع عوامل فساد و کاهش شاخص‌های TVN به حدود 11 میلی‌گرم در 100 گرم، سبب افزایش عمر نگهداری فیله ماهی در حین نگهداری در دمای یخچالی می‌شود. بنابراین می‌توان به‌منظور پژوهش‌های با ارزش‌تر، پیشنهاد می‌شود از این ترکیبات

منابع

- Akowuah, G., Ismail, Z., Norhayati, I. & Sadikun, A., 2005, The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry*, 93, 311-317.
- Amiri, S. & Niakousari, M., 2008, Shelf life of unpasteurized sour orange juice in Iran. *Fruits*, 63, 11-18.
- Aziz, S., Naher, S., Abukawsar, M. & Roy, S.K., 2017, Comparative studies on physicochemical properties and GC-MS analysis of Essential Oil of the two varieties of the Black Pepper (*Piper nigrum* Linn.). *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 2, 67-70.
- Chamanara, V., Shabanpour, B., Gorgin, S. & Khomeiri, M., 2012, An investigation on characteristics of rainbow trout coated using chitosan assisted with thyme essential oil. *International journal of biological macromolecules*, 50, 540-544.
- De Azevedo Gomes, H., da Silva, E.N., do Nascimento, M.R.L. & Fukuma, H.T., 2003, Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chemistry*, 80, 433-437.
- Duan, J., Jiang, Y., Cherian, G. & Zhao, Y., 2010, Effect of combined chitosan-krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets. *Food Chemistry*, 122, 1035-1042.
- Fan, W., Chi, Y. & Zhang, S., 2008, The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food chemistry*, 108, 148-153.
- Frangos, L., Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A. & Savvaidis, I., 2010, Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets. *Food microbiology*, 27, 115-121.

- 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.
- Gimenez, B., Roncales, P. & Beltran, J.A., 2002, Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 1154-1159.
- Goulas, A.E. & Kontominas, M.G., 2005, Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food chemistry*, 93, 511-520.
- Goulas, A.E. & Kontominas, M.G., 2007, Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 100, 287-296.
- Hafsa, J., ali Smach, M., Khedher, M.R.B., Charfeddine, B., Limem, K., Majdoub, H. & Rouatbi, S., 2016, Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil. *Journal Food Scince Technol*, 68, 356-364.
- 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.
- Huang, B., He, J., Ban, X., Zeng, H., Yao, X. & Wang, Y., 2011, Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot and leaf. *Meat science*, 87, 46-53.
- Jeena, K., Liju, V.B., Umadevi, N. & Kuttan, R., 2014, Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive properties of black pepper essential oil (*Piper nigrum* Linn). *Journal of Essential oil Bearing Plants*, 17, 1-12.
- Jeon, Y.-J., Kamil, J.Y. & Shahidi, F., 2002, Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5167-5178.
- Kilincceker, O., Dogan, I.S. & Kucukoner, E., 2009, Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. *LWT-Food science and Technology*, 42, 868-873.
- Kostaki, M., Giatrakou, V., Savva, I.N. & Kontominas, M.G., 2009, Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food microbiology*, 26, 475-482.
- Lakshmanan, P., 2000, Fish spoilage and quality assessment.
- Lin, C.-C. & Lin, C.-S., 2005, Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food control*, 16, 169-175.
- Lugasi, A., Losada, V., Hovari, J., Lebovics, V., Jakoczi, I. & Aubourg, S., 2007, Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 930-936.
- Mexis, S., Chouliara, E. & Kontominas, M., 2009, Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 C. *Food microbiol*, 26, 598-605.
- Newall, C.A., Anderson, L.A. & Phillipson, J.D., 1996, Herbal medicines. A guide for health-care professionals. The pharmaceutical press.
- Nowzari, F., Shábanpour, B. & Ojagh, S.M., 2013, Comparison of chitosan-gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*, 141, 1667-1672.
- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. & Hosseini, S.M.H., 2010, Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*, 120, 193-198.
- Özogul, F., Kus, B. & Kuley, E., 2013, The impact of strawflower and mistletoe extract on quality properties of rainbow trout fillets. *Internatinal Journal Food Science*, 48, 2228-2238.
- 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.
- Pearson, D., 1976, The chemical analysis of foods. Longman Group Ltd.
- Pourreza, N., 2013, Phenolic compounds as potential antioxidant. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 8, 149-150.
- Quintavalla, S. & Vicini, L., 2002, Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat science*, 62, 373-380.
- Rezaei, M., Hosseini, S.F., Langrudi, H.E., Safari, R. & Hosseini, S.V., 2008, Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Food chemistry*, 106, 1161-1165.
- Rostamzad, H., Shabanpour, B., Kashaninejad, M. & Shabani, A., 2010, Inhibitory impacts of natural antioxidants (ascorbic and citric acid) and vacuum packaging on lipid oxidation in frozen Persian sturgeon fillets. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 9, 279-292.
- Sallam, K.I., 2007, Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*, 18, 566-575.
- Sallam, K.I., Ahmed, A., Elgazzar, M. & Eldaly, E., 2007, Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4 C. *Food Chemistry*, 102, 1061-1070.

- Sathivel, S., 2005, Chitosan and protein coatings affect yield, moisture loss, and lipid oxidation of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Journal of food science*, 70.
- Shantha, N.C.& Decker, E.A., 1994, Rapid, Sensitive, Iron-Based Spectrophotometric Methods for Determination of Peroxide Values of Food Lipids.
- Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D.M.& Sporns, P., 2005, Handbook of Food Analytical Chemistry, Volume 1: Water, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrates. John Wiley & Sons.
- Yingyuad, S., Ruamsin, S., Reekprkhon, D., Douglas, S., Pongamphai, S.& Siripatrawan, U., 2006, Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork. *Packaging technology and science*, 19, 149-157.

Effect of orange juice concentrate and chitosan coating enriched with black pepper (*Piper nigrum*) essential oil on improvement of antioxidant and sensory properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet

F. Tooryan^{1*}, M. Azizkhani²

Received: 2018.05.19

Accepted: 2019.04.06

Introduction: Nowadays, consumers are applicant to usage of natural replacements causing to side effects of synthetic preservatives such as carcinogenicity and teratogenicity. The tendency to use natural preservatives and replacing them with chemical preservatives has led to various studies of natural compounds with antioxidant properties such as essential oils. Considering the environmental problems raised from current plastic packaging, edible and biodegradable coating could be developed and also be effective in controlling the chemical and microbial properties of food; especially if their effect be strengthened by adding natural antioxidant and antimicrobial agents like herbal essential oils. Various herbal compounds such as black pepper essential oils with antioxidant properties can be effective in combining with natural biodegradable coatings such as chitosan in oxidation control and enhance the effects or prevent or delay the chemical spoil. Safety and shelf-life of foods can be improved by using this technologies such as using natural preservatives. Adding essential oil, as a suitable source of antioxidant, for improvement the quality of the fish is the main purpose. Many fruits, especially orange, are rich in polyphenols. These materials are the most commonly existing phytochemicals in most fruits. Orange juice concentrate can be a good source of antioxidant and can be employed as a preservative in food products. Omega-3 fatty acid is used in daily healthy diet and plays an important role in prevention of disease. Being a considerably main source of Omega-3 fatty acid groups, fish preservation against oil oxidation and any other similar causatives seems quite necessary. In the present study, the effects of orange juice concentrate and chitosan coating enriched with black pepper essential oil on the chemical degradation of rainbow trout fillet stored in a refrigerator investigated.

Materials and methods: The chemical composition of black pepper essential oils were determined using a gas chromatography equipped with mass spectroscopy (GC/MS). GC-MS analysis of the essential oil was performed using Agilent-Technologies 6890N Network gas chromatographic (GC) system, equipped with Agilent Technologies 5975 inert XL Mass selective detector and Agilent-Technologies 7683 B series auto injector (Agilent-Technologies, Little Falls, CA, USA). Samples were stored at 4 ± 1 C° up to 12 days and evaluated periodically (on days 0, 4, 8 and 12) for chemical and sensory characteristics. The samples were divided into 8 groups and assessed for PH-values, total volatile nitrogen (TVN), thiobarbituric acid (TBA), peroxide value (PV), free fatty acids (FFA) and sensory evaluation .The samples were also evaluated for antioxidant activity by measuring their scavenging abilities to DPPH radical (2,2 diphenyl-1-picril hydrazyl) and RP (Reducing power). Statistical analysis was performed using SPSS 20 software.

Results & Discussion: Results showed that More than 21 compounds were identified in oil, representing 97.75% of the total oil. The major constituents of essential oils obtained from the black pepper were β -caryophyllene (25.56%), Limonene (15.19%), Sabinene(12.2) , α -copaene(8.5) and beta –bisabolene (7.81) respectively. Results revealed that in comparison to the other treatments the control showed a significant increase in the trend of oxidative and sensory indexes and In the coated samples, the sample of fish coated with orange juice concentrate ,chitosan, and black pepper essential oil was the least amount of indexes than the rest ($p<0/05$) and showed lower indexes during the storage time .The radical scavenging DPPH, orange juice concentrate with a Brix 1/39 (66/9 %)and pepper essential oil 2% (64/1%) have more ability and had a greater antioxidant activity. In investigating corruption oxidation and sensory evaluation in all samples,chitosan coating with pepper essential oil and orange juice concentrate was higher(score:7/2) than other treatments and there were significant differences between treatment and control ($p<0/05$). Final peroxide value (meq O2/Kg oil) and tiobarbituric acid (m gr/kg oil MD) number using chitosan coating with pepper essential oil and orange juice concentrate in sample was 0.14 and 0.015, respectively. This significant deference was also observed when

Asistant professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.

(*Corresponding Author Email: f.tooryan@ausmt.ac.ir)

comparing to control sample ($p < 0.05$) Minimum oxidative changes were observed in samples treated with orange juice concentrate, chitosan, and black pepper essential oil and had the best conditions in reduction of oxidative rancidity. The results obtained in this study showed that the chitosan coating enriched with black pepper essential oil with orange juice concentrate has a good potential to being employed as an active packaging to preserve food products. Overall, this study demonstrated that using concentrated juice incorporated with chitosan coating with pepper essential oil has a good effect on the quality of rainbow trout fillets and can keep on the sensorial attributes acceptably during 12 days storage time and present a good potential for their application in the food industry.

Key words: orange, black pepper, chitosan, *Oncorhynchus mykiss*, sensory properties

Contents

Evaluation of oxidative stability of frying olive oil during thermal and frying processes	243
F. Habibi Nodeh, R. Farhoosh, A. Sharif	
Investigation of the organic acids, microbial and sensory properties of probiotic drinking yogurt containing glucose oxidase immobilized on magnetic chitosan nanoparticles	255
M. Ein Ali Afjeh, R. Pourahmad, B. Akbari Adergani, M. Azin	
Investigation of Antimicrobial and Synergistic effects of doped Zinc Oxide Nanoparticles against <i>Bacillus cereus</i>	266
Z. Didar	
Use of clarifying agents in the purification of raw sugar beet juice	278
E. Arjeh, M. Pirouzifard, S. Pirsā	
The effect of chitosan coating containing lemongrass extract on the quality of dehydrated sliced quince during storage	295
A. Asar zadegan, M. Fazel	
The effect of infrared pre-heating and pulsed electric field on physicochemical properties of tomato juice	307
S. Aghajanzadeh Suraki, A. M. Ziaifar, M. Kashaninejad, A. Rezaie Asl	
Studying the Dynamic Thermal Decomposition Kinetics of Whole Potato Flour and Chicken Feet Gelatin Blending based Bioplastic	322
H. Omrani fard, M. H. Abbaspour Fard, M. Khojastehpour, A. Dashti	
Identification of lactic flora of fermented carrot using biochemical and molecular method and determination of their relationship with phylogenetic analysis	338
M. E. Goharjoo, M. R. Edalatian Dovom, F. Shahidi, F. Tabatabaei Yazdi, M. J. Varidi	
Determination of the relationship between volume and weight of pear fruit with bruise due to impact load loading using non-destructive CT scan	353
M. Azadbakht, M. J. Mahmoodi, M. Vahedi Torshizi	
Study on the effect of osmotic pretreatment on the quality of air-dried potato sticks using response surface methodology	367
N. Jafari, S. H. R. Ziaolhagh, A. R. Mohammadi Nafchi	
Evaluation of pomegranate peel carbon potential as a adsorbent of pigment and bi and trivalent metals in liquid media	380
N. Hadigol, M. Fahim Danesh, S. Hoseini	
Effect of orange juice concentrate and chitosan coating enriched with black pepper (<i>Piper nigrum</i>) essential oil on improvement of antioxidant and sensory properties of rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) fillet	393
F. Tooryan, M. Azizkhani	

Iranian Food Science and Technology Research Journal

Vol. 15

No. 2

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.



Ferdowsi University
of Mashhad

Vol.15

No.2

2019

Iranian Food Science and Technology Research Journal



ISSN:1735-4161

Contents

- Evaluation of oxidative stability of frying olive oil during thermal and frying processes243**
F. Habibi Nodeh, R. Farhoosh, A. Sharif
- Investigation of the organic acids, microbial and sensory properties of probiotic drinking yogurt containing glucose oxidase immobilized on magnetic chitosan nanoparticles255**
M. Ein Ali Afjeh, R. Pourahmad, B. Akbari Adergani, M. Azin
- Investigation of Antimicrobial and Synergistic effects of doped Zinc Oxide Nanoparticles against Bacillus cereus266**
Z. Didar
- Use of clarifying agents in the purification of raw sugar beet juice278**
E. Arjeh, M. Pirouzifard, S. Pirsā
- The effect of chitosan coating containing lemongrass extract on the quality of dehydrated sliced quince during storage295**
A. Asaradegan, M. Fazel
- The effect of infrared pre-heating and pulsed electric field on physicochemical properties of tomato juice307**
S. Aghajanzadeh Suraki, A. M. Ziaifar, M. Kashaninejad, A. Rezaie Asl
- Studying the Dynamic Thermal Decomposition Kinetics of Whole Potato Flour and Chicken Feet Gelatin Blending based Bioplastic322**
H. Omranifard, M. H. Abbaspour Fard, M. Khojastehpour, A. Dashti
- Identification of lactic flora of fermented carrot using biochemical and molecular method and determination of their relationship with phylogenetic analysis338**
M. E. Goharjoo, M. R. Edalatian Dovom, F. Shahidi, F. Tabatabaei Yazdi, M. J. Varidi
- Determination of the relationship between volume and weight of pear fruit with bruise due to impact load loading using non-destructive CT scan353**
M. Azadbakht, M. J. Mahmoodi, M. Vahedi Torshizi
- Study on the effect of osmotic pretreatment on the quality of air-dried potato sticks using response surface methodology 367**
N. Jafari, S. H. R. Ziaolhagh, A. R. Mohammadi Nafchi

Continue Content in cover