نشریه علمی

پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران

Iranian food science and technology Association

دانشگاه فردوسی مشهد

جلد ۱۵ شماره ۴

سال ۱۳۹۸

شماره پیاپی ۵۷

شاپا: ۱۷۳۵-۴۱۶۱

عنوان مقالات

بررسی اثر پودر جوانه گندم بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی نوشیدنی کفیر ۳۹۵
سهیلا احمدیان مسک- فریده طباطبایی- سید علی مرتضوی- آرش کوچکی

تاثیر توام نانوذرات نقره/ اکسید روی بر خواص کاربردی فیلم‌های بسته‌بندی پلی‌وینیل الکل ۴۰۷
زهرا کریمی ولوجایی- محمدحسین عباسپور فرد- محمدحسین آق خانی- سعید طریقی

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خامه‌زده شده حاوی پودر شیرین بیان ۴۱۹
زهرا حسین‌پور- حجت کاراژیان

تشخیص اختصاصی آفلاتوکسین G1 بر مبنای رنگ‌سنجی آپتاسنسور به‌وسیله سوسپانسیون نانو ذرات طلا شده ۴۳۳
آرزو هاشم‌نیا- وحید حکیم‌زاده

تاثیر چندگونه مخمر بر کاهش آفلاتوکسین B1 آسپرژیلوس فلاووس در مدل شبیه‌سازی شده معده انسان ۴۴۱
سحر بهرام‌وند- صدیقه محمدی

بررسی ویژگی‌های مکانیکی، فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم ژلاتینی حاوی هیدروسل استخراجی زردچوبه (*Curcuma longa*) ۴۵۳
زهره دیدار

مدل‌سازی سفتی بافت و سینتیک خشک شدن میوه "به" در خشک‌کن همرفتی مادون قرمز توسط شبکه عصبی مصنوعی ۴۶۵
امیر گیتی‌بان کلجاه- نارملا آصفی

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پکتین استخراج شده از پسماند بادمجان با استفاده از امواج فراصوت ۴۷۷
محمّد نوشاد- محمّد امین مهرنیا- نسیم دهقان

بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای میدان الکتریکی پالسی و ریزموج بر برخی از خصوصیات روغن و کنجاله حاصل از دان سیاه ۴۸۵
نازنین مریم محسنی- حبیب الله میرزایی- معصومه مقیمی

ارزیابی پارامترهای شیمیایی لازم برای اصالت‌سنجی آبلیمو ترش تجاری ۴۹۷
زهرا علائی روزبهانی

مقایسه اثر ضدقارچی عصاره و روغن سیاهدانه با ایمازالیل بر دو رقم سیب انباری ۴۹۷
سودابه عین افشار

بررسی خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم خوراکی بر پایه امولسیون نشاسته و اسید اولئیک و پوشش‌دهی میوه گوجه‌سبز ۵۱۷
مسعود تقی‌زاده- اسما اقبال

نشریه علمی پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران جلد ۱۵ شماره ۴ سال ۱۳۹۸ 2019 Vol.15 No.4 Iranian Food Science and Technology Research Journal

نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران

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

جلد 15 شماره 4 مهر - آبان 1398

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

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر ناصر شاهنوشی — استاد، اقتصاد کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)

سردبیر: دکتر فریده طباطبایی یزدی — استاد، میکروبیولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

اعضای هیئت تحریریه:

دکتر محمدباقر حبیبی نجفی — استاد، میکروبیولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر مرتضی خمیری — دانشیار، میکروبیولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دکتر سید محمد علی رضوی — استاد، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر فخری شهیدی — استاد، میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر عسگر فرحناکی — دانشیار، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه شیراز

دکتر رضا فرهوش — استاد، شیمی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر مهدی کاشانی نژاد — دانشیار، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دکتر فریده طباطبایی یزدی — استاد، میکروبیولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر سید علی مرتضوی — استاد، میکروبیولوژی وبیوتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

شمارگان: 250 نسخه

قیمت: 5000 ریال (دانشجویان 2500 ریال)

نشانی: مشهد - کد پستی 91775 صندوق پستی 1163

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

تلفن: 20-8795618 داخلی 321 نمابر: 8787430

این نشریه درپایگاههای زیر نمایه شده است:

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

پست الکترونیکی: ifstrj@um.ac.ir

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

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

بررسی اثر پودر جوانه گندم بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی نوشیدنی کفیر 395
سهیلا احمدیان مسک- فریده طباطبایی- سید علی مرتضوی- آرش کوچکی

تاثیر توام نانوذرات نقره/ اکسید روی بر خواص کاربردی فیلم‌های بسته‌بندی پلی‌وینیل الکل 407
زهرا کریمی ولوجایی- محمدحسین عباسپور فرد- محمدحسین آق خانی- سعید طریقی

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خامه‌زده شده حاوی پودر شیرین بیان 419
زهرا حسین‌پور- حجت کاراژیان

تشخیص اختصاصی آفلاتوکسین G1 بر مبنای رنگ‌سنجی آپتاسنسور به‌وسیله سوسپانسیون نانو ذرات طلا شده 433
آرزو هاشم‌نیا- وحید حکیم‌زاده

تاثیر چندگونه مخمر بر کاهش آفلاتوکسینB1 آسپرژیلوس فلاووس در مدل شبیه‌سازی شده معده انسان 441
سحر بهرام‌وند- صدیقه محمدی

بررسی ویژگی‌های مکانیکی، فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم ژلاتینی حاوی هیدروسل استخراجی زردچوبه (*Curcuma longa*) 453
زهره دیدار

مدل‌سازی سفتی بافت و سینتیک خشک شدن میوه "به" در خشک‌کن همرفتی مادون قرمز توسط شبکه عصبی مصنوعی 465
امیر گیتی‌بان کلجاه- نارملا آصفی

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پکتین استخراج شده از پسماند بادمجان با استفاده از امواج فراصوت 477
محمّد نوشاد- محمّد امین مهرنیا- نسیم دهقان

بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای میدان الکتریکی پالسی و ریزموج بر برخی از خصوصیات روغن و کنجاله حاصل از دان سیاه 485
نازنین مریم محسنی- حبیب الله میرزایی- معصومه مقیمی

ارزیابی پارامترهای شیمیایی لازم برای اصالت‌سنجی آبلیمو ترش تجاری 497
زهرا علائی روزبهانی

مقایسه اثر ضدقارچی عصاره و روغن سیاهدانه با ایمازالیل بر دو رقم سیب انباری 507
سودابه عین افشار

بررسی خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم خوراکی بر پایه امولسیون نشاسته و اسید اولئیک و پوشش‌دهی میوه گوجه‌سبز 517
مسعود تقی‌زاده- اسما اقبال

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 395-406

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر- آبان 1398، ص. 406-395

بررسی اثر پودر جوانه گندم بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی نوشیدنی کفیر

سهیلا احمدیان مسک[1]- فریده طباطبایی یزدی[2*]- سید علی مرتضوی[2]- آرش کوچکی[2]

تاریخ دریافت: 1397/08/28
تاریخ پذیرش: 1398/02/09

چکیده

جوانه گندم به‌عنوان یک ماده خام مغذی برای ترکیب در فرمولاسیون محصولات غذایی شناخته شده و دارای ارزش غذایی و دارویی فراوانی می‌باشد. در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف پودر جوانه گندم (1، 2 و 3 درصد) را بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (اسیدیته، pH، اتانول، ویسکوزیته ظاهری و پارامترهای رفتار جریان)، میکروبی (شمارش *Lactobacillus*، مخمرها و شمارش کلی جمعیت میکروبی) و حسی نوشیدنی کفیر در طی 24، 48 و 72 ساعت پس از تلقیح مورد بررسی قرارگرفت. مطابق نتایج حاصل از آزمون‌های انجام شده، pH نمونه‌های کفیر در زمان نگهداری کاهش و با افزایش درصد غلظت پودر جوانه گندم میزان اسیدیته افزایش یافت. بین درصدهای مختلف پودر جوانه گندم نیز در میزان تولید الکل تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($P<0/001$). نمونه حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم بالاترین میزان اتانول را داشت. با افزایش درصد غلظت پودر جوانه گندم، میزان مخمرها و شمارش کلی میکروبی افزایش معنی‌داری نشان داد در حالی که میزان *Lactobacillus* کاهش یافت ($P<0/001$). نمونه‌های کفیر همراه با جوانه گندم، مطابق مدل قانون توان رفتار جریان غیرنیوتنی نشان دادند. ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها با افزایش درصد غلظت جوانه گندم کاهش معنی‌داری داشت ($P<0/001$). بر طبق نتایج ارزیابی حسی، کفیر تولید شده با یک درصد جوانه گندم بالاترین امتیاز ارزیابی کلی را طی 72 ساعت دریافت کرد.

واژه‌های کلیدی: کفیر، جوانه گندم، ویسکوزیته، شمارش میکروبی، آنالیز حسی.

مقدمه

کفیر یک نوشیدنی سنتی است که از طریق تخمیر شیر توسط دانه‌های کفیر تهیه می‌شود، این نوشیدنی به علت دارا بودن فواید سلامتی‌بخش، پیشگیری از برخی بیماری‌ها و ارزش تغذیه‌ای به‌طور فزاینده‌ای در سراسر جهان محبوب می‌باشد (Nalbantoglu *et al.*, 2014). دانه‌های کفیر شامل مجموعه‌ای از باکتری‌های اسید لاکتیک، مخمر و گاهی اوقات باکتری‌های اسید استیک در یک ماتریکس پلی‌ساکاریدی به نام کفیران[3] می‌باشند (Suriasih *et al.*, 2012). کفیر نوشیدنی گازدار با عطر و طعم مخصوص به‌خود است که مخلوطی از اسید لاکتیک، کربن دی اکسید و اتانول و سایر ترکیبات طعم‌دهنده مانند استالدئید، دی‌استیل و استوئین را داراست (Chen *et al.*, 2005). این نوشیدنی برای درمان چندین وضعیت بالینی مانند مشکلات گوارشی، فشار خون بالا، آلرژی و بیماری ایسکمیک[4] قلبی توصیه شده است. در حین تخمیر دانه کفیر، طیف وسیعی از ترکیبات زیست فعال مانند اسیدهای آلی، دی‌اکسیدکربن، هیدروژن پراکسید، اتانول، پپتیدهای زیست‌فعال، اگزوپلی‌ساکاریدها (کفیران) و باکتریوسین‌ها مشاهده گردیده، این ترکیبات ممکن است به‌طور مستقل یا با هم برای ایجاد فواید سلامتی‌بخش گوناگون مرتبط با مصرف کفیر عمل کنند (Leite *et al.*, 2013). کفیر با نام‌های kefyr، kephir، kefer، kiaphur، knapon، kepi و kippi شناخته شده است (Rattray *et al.*, 2011). امروزه محبوبیت آن در سراسر جهان گسترش یافته و به‌عنوان محصولی سالم با ارزش تغذیه‌ای بالا در اروپا، آسیا و جنوب و شمال آمریکا مطرح می‌باشد (Plessas *et al.*, 2016).

جوانه گندم حدود 2 تا 3 درصد وزن کل دانه را داراست و از آنجا که بر کیفیت فرایند و نگهداری آرد اثر مضر می‌گذارد به‌طور سیستماتیک در طول آسیاب کردن حذف می‌شود (Rizzello *et al.*, 2011). جوانه گندم به‌عنوان یک ماده خام مغذی برای ترکیب در فرمولاسیون محصولات غذایی یا به‌عنوان یک غذا در جای خودش شناخته شده و تقریبا دارای 8 تا 14 درصد روغن (متوسط 10 درصد) بوده که به‌طور عمده در صنایع پزشکی و لوازم آرایشی کاربرد دارد. متاسفانه مقدار زیادی از جوانه تولید شده در حال حاضر در تولید خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرد (Mahmoud *et al.*, 2015). بر اساس

1 و 3- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
(* - نویسنده مسئول: Email: Tabatabai@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.76680
3 Kefiran
4 Ischemic

تجزیه و تحلیل شیمیایی، جوانه گندم شامل منیزیم، روی، کلسیم، سلنیم، سدیم، پتاسیم، فسفر، کروم و آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله بتاکاروتن (برای ویتامین A)، ویتامین E، ویتامینC، ویتامین B_{12}، ویتامین B_6، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، اسید فولیک، آهن، اسیدهای آمینه ضروری، آنزیم‌ها، اسیدهای چرب غیراشباع عمدتا اولئیک، لینولئیک و آلفالینولئیک اسید بوده لذا دارای ارزش غذایی و دارویی قابل توجهی می‌باشد (Ataollahi *et al*., 2015). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد جوانه گندم اثرات فیزیولوژیک مفیدی در حفظ کلسترول در سطح نرمال و کاهش بالقوه میکروارگانیسم‌های پاتوژن دستگاه گوارش دارد (Moreira-Rosário *et al*., 2016). همچنین به تازگی پتانسیل جوانه گندم فراوری شده در پیشگیری و درمان سرطان‌زایی به اثبات رسیده است (Rizzello *et al*., 2011). به‌طور کلی هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف پودر جوانه گندم بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی نوشیدنی کفیرمی‌باشد.

مواد و روش‌ها

آغازگر (مایه کشت)

آغازگر مورد استفاده، آغازگر صنعتی با نام تجاری ABT_2 حاوی *Streptococcus thermophilus*، *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*، *Bifidobacterium* و از نوع DVS[1] و به‌صورت خشک شده انجمادی (لیوفیلیزه) بوده که از طریق نمایندگی شرکت کریستین هانسن (دانمارک) دریافت گردید، از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* تولید شده توسط شرکت ساف لیفور (فرانسه) استفاده شد. شیر مورد نیاز نیز از مجتمع پایلوت صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. جوانه گندم مورد استفاده محصول شرکت صنایع غذایی ایثار قاینات بوده که با استفاده از آسیاب پودر گردید و دانه‌بندی ذرات با الک با مش 250 صورت گرفت و نهایتا تمامی مواد (شیمیایی) استفاده شده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

تولید کفیر

پودر جوانه گندم تثبیت شده با بخار (Srivastava *et al*., 2007) در سه سطح 1، 2 و 3 درصد همراه با آغازگر DVS و مخمر *Saccharomyces cerevisiae* در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به شیر پاستوریزه و هموژنیزه پرچرب تلقیح و به گرمخانه با دمای 25 درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. با رسیدن نمونه‌ها به pH: 4/6 از گرمخانه خارج و به یخچال با دمای 5 درجه سانتی‌گراد منتقل شد. آزمون‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی طی 24، 48 و 72 ساعت پس از تلقیح انجام گرفت (Kök-Taş *et al*., 2013).

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی نوشیدنی کفیر

pH و اسیدیته

pH کفیر به‌وسیله دستگاه pHمتر (Metrohm، سوئیس) دیجیتال اندازه‌گیری شد، همچنین میزان اسیدیته نمونه‌ها نیز بر حسب غلظت اسید لاکتیک به‌وسیله تیتراسیون با محلول هیدروکسید سدیم N/10 با استفاده از فنل فتالئین به‌عنوان شناساگر اندازه‌گیری شد (استاندارد ملی ایران شماره 2852).

اندازه گیری الکل به روش اسپکتروسکوپی

اندازه‌گیری الکل به روش اسپکتروسکوپی مطابق روش Sayyad و همکاران (2015) انجام گرفت بدین صورت که مقدار 2/5 میلی‌لیتر از نمونه کفیر با مقدار مساوی آب مقطر رقیق شده و با 5 میلی‌لیتر TBP[2] به مدت 15 دقیقه مخلوط گردید، سپس لوله‌ها در دمای اتاق قرار داده شد تا جداسازی فاز صورت گیرد. در گام بعد از لایه بالایی برای اکسیداسیون دی‌کرومات استفاده شد. سپس محلول‌های استاندارد اتانول با رقیق کردن مقدار مشخصی از اتانول خالص با استفاده از آب مقطر و انجام فرآیند مشابه آماده گردید و نهایتا اکسیداسیون دی‌کرومات و تجزیه و تحلیل اسپکتروفتومتری انجام شد. بدین صورت که 3 میلی‌لیتر از لایه TBP به لوله جدید انتقال داده شده و با 3 میلی‌لیتر از معرف دی‌کرومات با تکان دادن در 150 rpm به مدت 10 دقیقه مخلوط گردید، سپس لایه پایینی از آن جداشده و مقدار جذب آن در طول موج 595 nm با استفاده از اسپکتروفتومتر سیگما (625 nm, 3-30 k) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری ویسکوزیته

اندازه‌گیری رفتار جریان با استفاده از ویسکومتر چرخشی (DV3 ultra، بروکفیلد، آمریکا) در دمای 5 درجه‌سانتی گراد توسط اسپیندل شماره 3، در محدوده سرعت برشی 1 تا 80 بر ثانیه انجام گرفت (Liu & Lin, 2000). برازش داده‌های تجربی نمونه‌ها با به‌کارگیری مدل قانون توان انجام شد.

آزمون میکروبی

شمارش *Lactobacillus* بر محیط کشت MRS agar[3] در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 3 روز، شمارش مخمرها نیز بر محیط کشت YGC agar[4] در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 روز (Kök-Taş *et al*., 2013) و شمارش کلی بر محیط کشت PCA[5] در

1 Direct Vat Set
2 tri-n-butyl phosphate
3 Man Rogosa Sharpe
4 Yeast extract Glucose Chloramphenicol
5 Plate Count Agar

دمای 30 درجه سانتی‌گراد به مدت دو روز انجام گرفت (Krasaekoopt *et al*., 2004).

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه‌ها با استفاده از روش هدونیک 5 نقطه‌ای انجام شد. ویژگی‌های مورد بررسی در این آزمون شامل بافت، رنگ، طعم، بو و پذیرش کلی بوده که این ویژگی‌ها توسط 10 نفر از دانشجویان آموزش دیده گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد مورد ارزیابی قرار گرفتند (Kök-Taş *et al*., 2013).

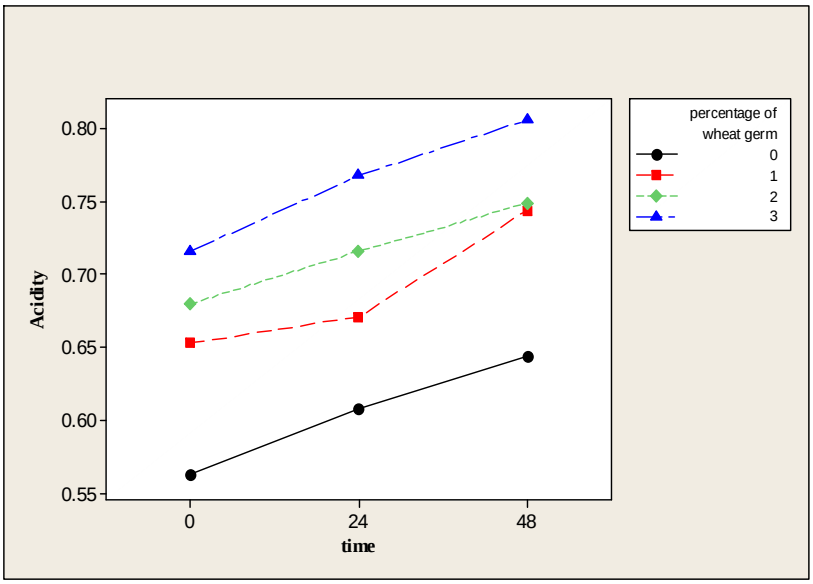
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آنالیز آماری با نرم افزار مینی‌تب ورژن 16 (با 3 تکرار) و آنالیز واریانس با استفاده از مدلسازی خطی GLM انجام شد، همچنین برای تعیین تفاوت میان میانگین‌ها، آزمون توکی به‌کار گرفته شد.

نتایج و بحث

pH و اسیدیته

pH یک فاکتور مهم است که می‌تواند بر کیفیت محصولات تخمیری تاثیر زیادی بگذارد، pH معمول در کفیرهای تولید شده در کارخانجات لبنی بین 4/3 تا 4/4 می‌باشد (Bylund, 1995). به‌طور کلی مقادیر اندازه‌گیری شده در این پژوهش مطابق با سایر پژوهش‌های مختلف انجام شده بود (Dadkhah *et al*., 2011, Kök-Taş *et al*., 2013, Gul *et al*., 2015). Doğan (2011) pH:4/65 را برای کفیر تولید شده از شیر و برای کفیرهای تولید شده با اضافه کردن مقادیر مختلف عسل بین 4/04 تا 4/64 ثبت نمود. نتایج بررسی‌های انجام شده (جدول1)، حاکی از کاهش میزان pH نمونه‌های کفیر در زمان نگهداری بود (P<0/001) و در روز اول بین 4/58 تا 4/64 ثبت گردید. دلیل اصلی برای کاهش pH تشکیل برخی اسیدهای آلی، اتانول، دی‌اکسید کربن و دیگر ترکیبات فرار می‌باشد (Zajšek & Goršek, 2010). کاهش pH در طی زمان نگهداری مشابه نتایج حاصل از بررسی‌ها و مطالعات سایر پژوهشگران (Irigoyen *et al*., 2005, Grønnevik *et al*., 2011) است و این روند همچنین در سایر محصولات تخمیری نظیر ماست نیز اتفاق می‌افتد (Abrahamsen & Holmen, 1981, Katsiari *et al*., 2002). در بررسی‌های آماری انجام شده مشاهده گردید با افزایش درصد غلظت جوانه گندم، در میزان کاهش pH تفاوت معنی‌داری ایجاد نشده است (P>0/05). اسید لاکتیک محصول عمده کاتابولیز لاکتوز توسط فلور میکروبی است که به محصول تولید شده مزه ترش و اسیدی می‌دهد. با تولید تدریجی اسید لاکتیک میسل کازئین ناپایدار شده و به دنبال آن پروتئین‌های آب پنیر به علت حل شدن فسفات کلوئیدی دناتوره می‌گردد (Tamime & Robinson, 1999). بر اساس نتایج حاصل از آزمون‌های انجام شده اسیدیته تمامی نمونه‌ها در زمان نگهداری افزایش یافت (P<0/001) که همانند نتایج سایر پژوهشگران (Dimitreli *et al*., 2013, Gul *et al*., 2015) می‌باشد.



شکل 1- اثر متقابل درصد جوانه گندم و زمان بر روی میزان اسیدیته

میزان اسیدیته در نمونه شاهد در مقایسه با نمونه‌های حاوی پودر جوانه گندم مقدار پایین‌تری نشان می‌داد که مطابق با نتایج Seleet و همکاران (2016) بود که نشان دادند اضافه کردن دوغاب جوانه گندم اسیدیته را در طی فرایند تخمیر شیر افزایش می‌دهد. طی بررسی‌های آماری مشاهده گردید که با افزایش درصد غلظت پودر جوانه گندم میزان اسیدیته نیز افزایش یافته و نمونه حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم بالاترین میزان اسیدیته را دارا می‌باشد (P<0/001)، احتمالا در نمونه شاهد لاکتوز، قندی است که متابولیزه می‌شود ولی در نمونه‌های حاوی جوانه گندم علاوه بر لاکتوز، قند موجود در جوانه گندم نیز توسط فلور میکروبی متابولیزه می‌گردد. مطابق شکل 1، میزان اسیدیته نمونه‌های حاوی 1 و 2 درصد پودر جوانه گندم در زمان 72 ساعت پس از تلقیح تقریبا مشابه بوده و با نمونه حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم اختلاف زیادی دارد. این نتایج از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا اسید لاکتیک طعم مطبوعی را فراهم کرده و رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را به علت افزایش اسیدیته مهار می‌کند (Puerari *et al*., 2012).

الکل

حضور اتانول در تولید کفیر دارای اهمیت ویژه‌ای است زیرا عطر و طعم الکلی ملایمی به کفیر داده و همراه با دی‌اکسیدکربن از تخمیر مخمر حاصل می‌شود. بین کاهش محتوای مواد جامد محلول و افزایش شکل‌گیری اتانول، اسید لاکتیک، استیک اسید و دی‌اکسیدکربن همبستگی زیادی وجود دارد (Corona *et al*., 2016). میزان اتانول موجود در کفیر متفاوت (0/01 تا 1 درصد) و به کشت آغازگر، زمان تخمیر، دما و نوع ظرف بستگی دارد (Chen *et al*., 2005). بنابراین میزان الکل باید کافی باشد تا کفیر عطر و طعم ملایم اسیدی به خود بگیرد. مطالعات متعدد انجام شده مقادیر مختلفی از سطح اتانول پایین در نوشیدنی‌های کفیر با مواد مختلف را نشان داده‌اند از جمله g/l 10-0/05 درشیر گاو، g/l 0/12 در محلول شکر قهوه ای و تقریباg/l 11 در آب پنیر (Puerari *et al*., 2012). مطالعه Liu و Lin (2000) نشان داد که اضافه کردن یک درصد گلوکز یا لاکتوز به شیر سویا تولید اتانول را افزایش می‌دهد. مطابق داده‌های جدول 1، نمونه حاوی سه درصد پودر جوانه گندم دارای بالاترین مقدار اتانول بوده و پایین‌ترین میزان اتانول متعلق به نمونه شاهد است، همچنین در زمان نگهداری افزایش قابل توجهی در میزان اتانول دیده می‌شود (P<0/001)، که مطابق نتایج سایر پژوهشگران (Grønnevik *et al*., 2011, Gul *et al*., 2015) می‌باشدکه در مطالعات آن‌ها نیز میزان اتانول تولیدی در طول دوره نگهداری افزایش می‌یابد.

جدول 1- اثر سطوح مختلف پودر جوانه گندم بر تغییرات الکل، اسیدیته و pH نمونه‌های کفیر در زمان نگهداری

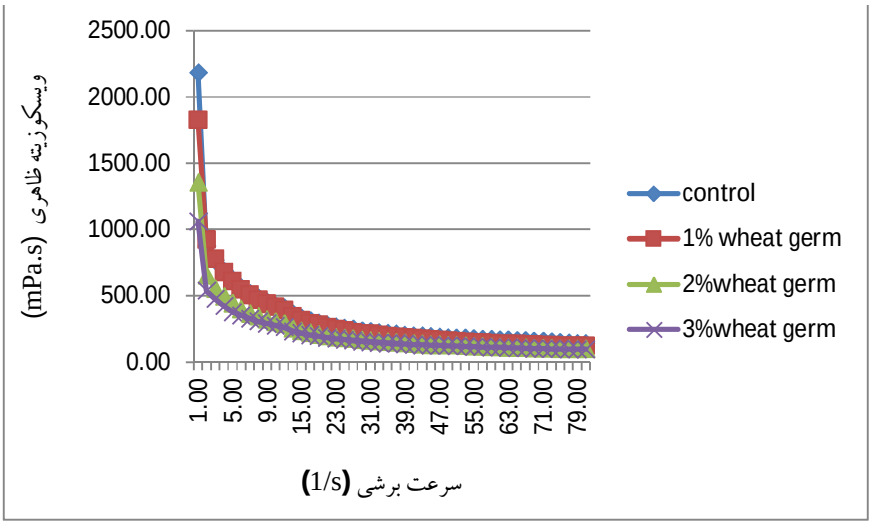
نمونه و زمان نگهداری	الکل	اسیدیته	pH
شاهد			
24h	$0/006\pm0/0004^{J}$	$0/56\pm0/006^{H}$	$4/60\pm0/007^{AB}$
48h	$0/01\pm0/001^{I}$	$0/60\pm0/006^{G}$	$4/49\pm0/021^{BCD}$
72h	$0/013\pm0/0004^{H}$	$0/64\pm0/006^{F}$	$4/44\pm0/021^{D}$
%1			
24h	$0/11\pm0/0004^{G}$	$0/65\pm0/006^{EF}$	$4/58\pm0/014^{ABC}$
48h	$0/12\pm0/00^{F}$	$0/67\pm0/006^{DE}$	$4/47\pm0/007^{CD}$
72h	$0/14\pm0/0002^{D}$	$0/74\pm0/004^{B}$	$4/46\pm0/007^{D}$
%2			
24h	$0/12\pm0/0004^{F}$	$0/67\pm0/006^{D}$	$4/61\pm0/049^{A}$
48h	$0/13\pm0/0004^{E}$	$0/71\pm0/006^{C}$	$4/47\pm0/056^{CD}$
72h	$0/14\pm0/00^{C}$	$0/74\pm0/010^{B}$	$4/43\pm0/042^{D}$
%3			
24h	$0/142\pm0/0003^{D}$	$0/71\pm0/006^{C}$	$4/64\pm0/014^{A}$
48h	$0/147\pm0/00^{B}$	$0/76\pm0/003^{B}$	$4/475\pm0/021^{CD}$
72h	$0/15\pm0/00^{A}$	$0/80\pm0/006^{A}$	$4/445\pm0/007^{D}$

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها می‌باشد (P<0/05).

بین درصدهای مختلف پودر جوانه گندم نیز در میزان تولید الکل تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P<0/001)، بدین صورت که با افزایش درصد غلظت جوانه گندم میزان اتانول تولیدی افزایش یافت. این تفاوت در میزان اتانول تولیدی در نمونه‌های مختلف را می‌توان به تفاوت در میزان مخمرها نسبت داد، بدین صورت که نمونه‌های دارای مخمر بالاتر میزان اتانول بالاتری تولید می‌کنند علاوه بر این نمونه‌های حاوی جوانه گندم دارای میزان قند بالاتری نسبت به نمونه شاهد بوده و مخمرها لاکتوز و سایر قندها را برای تولید اتانول در طی تخمیر الکلی مورد استفاده قرار می‌دهند (Kwak *et al*., 1996).

خواص رئولوژیکی

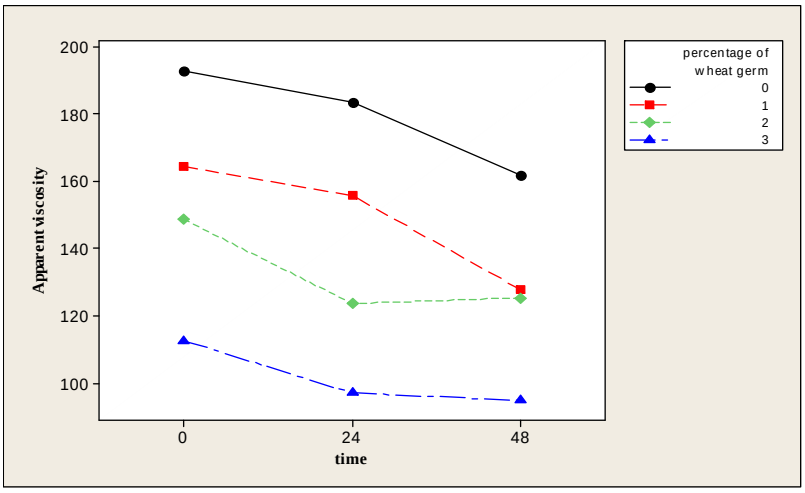
چندین مدل رئولوژیکی برای برازش داده‌های ویسکومتری نوشیدنی‌های لبنی تخمیر شده به کارگرفته شده است. باتوجه به اینکه ضریب همبستگی مدل قانون توان برای تمامی نمونه‌ها بالای 0/96 بود، در این پژوهش از این مدل استفاده گردید. ویسکوزیته نمونه‌های کفیر به‌عنوان تابعی از سرعت برشی به‌صورت گرافیکی در شکل 2، نشان داده شده است. کاهش می‌یابد که نشان دهنده رفتار غیرنیوتنی می‌باشد. ویسکوزیته تمامی نمونه‌ها در روز اول در دامنه بین mpa.s 193/07 و mpa.s 112/61 قرار داشته، نمونه شاهد دارای بالاترین میزان ویسکوزیته ظاهری (193/07 mpa.s در 24 ساعت پس از تلقیح و 161/82 mpa.s در 48 ساعت پس از تلقیح) و نمونه حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم از پایین‌ترین میزان ویسکوزیته ظاهری برخوردار بود (112/61 mpa.s در 24 ساعت پس از تلقیح و 94/76 mpa.s در 48 ساعت پس از تلقیح) بنابراین با افزایش درصد غلظت پودر جوانه گندم ویسکوزیته ظاهری کاهش می‌یابد (P<0/001) همچنین کاهش میزان ویسکوزیته ظاهری در نمونه‌های کفیر طی زمان نگهداری نیز مشاهده گردید (P<0/05) که مطابق با نتایج Irigoyen و همکاران (2005)، Doğan (2011) و Kök-Taş و همکاران (2013) است.



شکل 2- ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های کفیر به‌عنوان تابعی از سرعت برشی در روز اول

به‌طورکلی ویسکوزیته تمامی نمونه‌ها با افزایش سرعت برشی این کاهش ویسکوزیته ظاهری می‌تواند با هیدرولیز اگزوپلی‌ساکارید به مونومرهای آن توسط گلیکوهیدرولاز توضیح داده شود. مطابق نتایج Pham و همکاران (2000) کاهش گرانروی در طول فرایند تخمیر مشاهده و در طول مدت نگهداری در یخچال ادامه پیدا می‌کند. به همین ترتیب Bensmira و همکاران (2010) نشان دادند که در طی فرایند تخمیر (>30 h) میزان اگزوپلی‌ساکارید تولید شده توسط میکروفلور کفیر کاهش می‌یابد. بنابراین به‌نظر می‌رسد کاهش سطح اگزوپلی‌ساکارید منجر به کاهش ویسکوزیته کفیر شده و نتایج به‌دست آمده با یافته‌های سایر پژوهشگران که ماست تولید کرده بودند متفاوت می‌باشد، به‌طوری که طبق نتایج آن‌ها در دوره نگهداری میزان ویسکوزیته در نمونه‌های ماست افزایش یافته است (Abrahamsen & Holmen, 1980, Katsiari *et al*., 2002). مطابق شکل 3، ویسکوزیته ظاهری نمونه حاوی 1 و 2 درصد پودر جوانه گندم در زمان 72 ساعت پس از تلقیح مشابه بوده و با نمونه حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم اختلاف نسبتا زیادی را نشان می‌دهد که این امر می‌تواند به اسیدیته مشابه نمونه‌های 1 و 2 درصد پودر جوانه گندم در زمان 72 ساعت پس از تلقیح مربوط باشد. همانطور که در جدول2 مشاهده می‌گردد، شاخص رفتار جریان برای تمامی نمونه‌ها زیر یک بود که نشان‌دهنده رفتار غیرنیوتنی است که با نتایج سایر پژوهشگران (Doğan,

مشابهت (2011, Dimitreli *et al*., 2013, Kök-Taş *et al*., 2013) دارد. با افزایش درصد غلظت جوانه گندم مقدار n افزایش یافته (P<0/001)، همچنین در زمان نگهداری نیز میزان آن از روند افزایشی برخوردار است (P<0/05) که ناشی از کاهش میزان ضریب قوام و نزدیک شدن رفتار به حالت نیوتنی است. بالاترین میزان ضریب قوام مربوط به نمونه شاهد و پایین‌ترین میزان آن نیز مربوط به نمونه حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم می‌باشد. مقادیر شاخص قوام بزرگتر نشانگر قوام ویسکوز بیشتر است (Batista *et al*., 2006). با افزایش غلظت جوانه گندم میزان k کاهش یافته (P<0/001) و طی زمان نگهداری نیز از میزان آن کاسته می‌شود (P<0/001) که این نتایج می‌تواند به علت محیط اسیدی در نمونه‌های کفیر همراه با جوانه گندم باشد که با مطالعه Doğan (2011) که بر اساس آن ضریب قوام با افزایش غلظت عسل در نمونه‌های کفیر کاهش پیدا کرده، مطابقت دارد.



شکل 3- اثر متقابل درصد جوانه گندم و زمان بر روی میزان ویسکوزیته ظاهری

جدول 2- اثر سطوح مختلف پودر جوانه گندم بر تغییرات n، k و ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های کفیر در زمان نگهداری

نمونه و زمان نگهداری		n	k	ویسکوزیته ظاهری
شاهد				
	24h	0/353±0/021^{C}	2/26±0/141^{A}	193/07±11/68^{A}
	48h	0/361±0/021^{C}	2/124±0/2^{AB}	183/49±17/45^{AB}
	72h	0/398±0/021^{BC}	1/785±0/318^{ABC}	161/82±28/77^{ABC}
%1				
	24h	0/40±0/002^{BC}	1/68±0/10^{ABCD}	164/45±12/14^{ABC}
	48h	0/41±0/012^{ABC}	1/50±0/075^{BCDE}	155/85±15/57^{ABCD}
	72h	0/46±0/016^{ABC}	1/09±0/199^{DEF}	127/76±8/018^{BCDE}
%2				
	24h	0/40±0/048^{ABC}	1/79±0/00^{ABC}	148/82±12/69^{ABCDE}
	48h	0/44±0/025^{ABC}	1/17±0/199^{CDEF}	133/67±9/60^{BCDE}
	72h	0/47±0/015^{ABC}	1/05±0/073^{DEF}	125/34±6/90^{BCDE}
%3				
	24h	0/45±0/067^{ABC}	0/947±0/156^{EF}	112/61±10/67^{CDE}
	48h	0/49±0/01^{AB}	0/695±0/105^{F}	97/00±18/33^{DE}
	72h	0/53±0/052^{A}	0/694±0/119^{F}	94/76±18/027^{E}

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها می‌باشد (P<0/05).

شمارش میکروبی

جدول 2، میانگین تغییرات ویژگی‌های میکروبی (تعداد *Lactobacillus*، مخمرها و شمارش کلی) نمونه‌های کفیر طی 24، 48 و 72 ساعت پس از تلقیح در دمای 4 درجه‌سانتی گراد را نشان می‌دهد. بر اساس داده‌های جدول مذکور نمونه حاوی 1 درصد پودر جوانه گندم با 9/24 log cfu/ml در زمان 24 ساعت پس از تلقیح بالاترین میزان *Lactobacillus* را داشته و با افزایش درصد غلظت پودر جوانه گندم، میزان *Lactobacillus* کاهش یافته (P<0/001) که این امر می‌تواند مربوط به افزایش میزان مخمرها باشد. نمونه شاهد دارای *Lactobacillus* کمتری در مقایسه با نمونه‌های حاوی جوانه گندم بود، همچنین مقدار *Lactobacillus* در طی زمان نگهداری در تمامی نمونه‌ها کاهش نشان داد (P<0/001) که مطابق با نتایج Irigoyen و همکاران (2005)، Simova و همکاران (2002)، Kök-Taş و همکاران (2013) و Gronnevik و همکاران (2011) است. این کاهش در تعداد *Lactobacillus* ممکن است به علت کاهش میزان pH در طول زمان نگهداری باشد، pH اپتیمم برای رشد آن‌ها بین 5 تا 9 بوده و نشان می‌دهد که رشد آن‌ها در pH پایین‌تر از 4/5 مهار شده است (Cruz *et al.*, 2011) فاکتورهای اصلی کاهش زنده‌مانی بعضی از گونه‌های باکتری در شیرهای تخمیر شده، کاهش میزان pH در دوره نگهداری (پس از اسیدی شدن) و انباشته شدن اسیدهای آلی می‌باشد (Shah, 2000). این بازدارندگی به کاهش pH داخل سلولی باکتری مربوط است که توسط فرم تفکیک نشده اسید لاکتیک که باعث فروپاشی گرادیان الکتروشیمیایی پروتئین‌ها در سلول‌های حساس شده ایجاد می‌گردد (Cruz *et al.*, 2011). در رابطه با میزان مخمرها، با افزایش درصد غلظت جوانه گندم میزان مخمرها افزایش یافته و بالاترین میزان مربوط به نمونه حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم بوده و نمونه شاهد دارای مخمر پایین‌تری نسبت به سایر نمونه ها می‌باشد (P<0/001) که این امر به خواص تغذیه‌ای بالای جوانه گندم مربوط است، همچنین طی زمان نگهداری نیز میزان مخمرها روند افزایشی نشان دادند (P<0/001) که مطابق با نتایج Grønnevik *et al* (2011), Kök-Taş *et al* (2013) می‌باشد از طرفی با افزایش درصد غلظت جوانه گندم شمارش کلی میکروبی افزایش یافت (P<0/001) و نمونه شاهد در مقایسه با نمونه‌های حاوی جوانه گندم دارای پایینترین میزان شمارش میکروبی و نمونه حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم با 9/57 log cfu/ml در زمان 24 ساعت پس از تلقیح دارای بالاترین میزان شمارش کلی میکروبی بود و در طول زمان نگهداری نیز شمارش کلی میکروبی نمونه‌ها کاهش یافته است (P<0/001).

جدول 3- تعداد *Lactobacillus*، مخمرها و شمارش کلی میکروبی نمونه‌های کفیر در زمان نگهداری

نمونه و زمان نگهداری	شمارش کلی میکروبی	مخمر	*Lactobacillus*
شاهد			
24h	^{I}0/002±6/99	^{I}0/007±4/06	^{J}0/007±6/58
48h	^{J}0/007±6/89	^{H}0/007±4/22	^{K}0/007±6/32
72h	^{K}0/007±6/78	^{G}0/007±4/37	^{L}0/007±6/07
%1			
24h	^{D}0/007±8/64	^{F}0/007±5/13	^{A}0/007±9/24
48h	^{F}0/007±8/40	^{E}0/007±5/36	^{C}0/007±8/63
72h	^{H}0/007±8/15	^{BC}0/007±5/58	^{E}0/007±8/11
%2			
24h	^{C}0/00±8/72	^{E}0/007±5/37	^{B}0/00±9/15
48h	^{E}0/00±8/44	^{D}0/007±5/49	^{D}0/00±8/47
72h	^{H}0/00±8/16	^{BCD}0/063±5/56	^{G}0/00±7/70
%3			
24h	^{A}0/007±9/57	^{CD}0/00±5/53	^{F}0/00±7/90
48h	^{B}0/007±8/92	^{B}0/00±5/61	^{H}0/00±7/50
72h	^{G}0/007±8/26	^{A}0/00±5/69	^{I}0/00±7/10

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها می‌باشد (P<0/05).

ویژگی‌های حسی

نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های کفیر در 24 و 48 و 72 ساعت پس از تلقیح در جدول4، نشان داده شده است. بر اساس اطلاعات جدول مذکور نمونه حاوی یک درصد پودر جوانه گندم در زمان 72 ساعت پس از تلقیح با 4/25، 4/05، 4/2 و 4/6 بالاترین امتیازها را به‌ترتیب برای پذیرش کلی، بو، بافت و طعم دریافت نمود و بالاترین امتیاز رنگ طی

این مدت معادل 4/85 به نمونه شاهد تعلق گرفت. مدت زمان نگهداری سبب افزایش امتیازهای بافتی نمونه‌های حاوی پودر جوانه گندم و نمونه شاهد گردید (P<0/001). نمونه شاهد دارای امتیاز بافتی پایین‌تری نسبت به نمونه‌های حاوی 2 و 1 درصد پودر جوانه گندم بوده ولی نسبت به نمونه‌های حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم از امتیاز بافتی بالاتری برخوردار گردید (P<0/05). به‌طور کلی در طول زمان نگهداری امتیاز طعمی که نمونه‌ها دریافت نمودند افزایش یافت (P<0/001) و با افزایش درصد غلظت جوانه گندم نمونه‌ها امتیاز طعمی پایین‌تری دریافت نمودند، همچنین بالاترین امتیاز طعمی را نمونه حاوی 1 درصد پودر جوانه گندم و پس از آن نمونه شاهد دریافت نمود و پایین‌ترین امتیاز به نمونه حاوی 3 درصد جوانه گندم اختصاص یافت (P<0/001). مطابق مندرجات جدول3، در طول زمان نگهداری امتیاز رنگی که نمونه‌ها دریافت نمودند افزایش یافت (P<0/05). ارزیابان بالاترین امتیاز رنگی را به نمونه شاهد و پس از آن به نمونه حاوی 1 درصد پودر جوانه گندم دادند و پایین‌ترین امتیاز به نمونه‌های حاوی 3 درصد جوانه گندم تعلق گرفت که این امر به علت افزایش درصد غلظت جوانه گندم و در نتیجه تیره شدن رنگ نمونه‌ها می‌باشد (P<0/001). در طول زمان نگهداری امتیاز بویی که نمونه‌ها دریافت نمودند افزایش یافت (P<0/001). نمونه شاهد دارای امتیاز بویی پایین‌تر نسبت به نمونه‌های حاوی 2 و 1 درصد پودر جوانه گندم بوده ولی نسبت به نمونه‌های حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم امتیاز بالاتری را اخذ نمود (P<0/05). بالاترین امتیاز پذیرش کلی مربوط به نمونه حاوی 1 درصد پودر جوانه گندم و پس از آن مربوط به نمونه شاهد بوده و پایین‌ترین امتیاز پذیرش کلی به نمونه حاوی 3 درصد پودرجوانه گندم اختصاص یافت (P<0/001)، همچنین در طول زمان نگهداری امتیاز پذیرش کلی نمونه‌ها افزایش یافت (P<0/001).

جدول 4- ارزیابی حسی نمونه‌های کفیر در زمان نگهداری

نمونه و زمان نگهداری		پذیرش کلی	بو	رنگ	بافت	طعم
شاهد						
	24h	3/2±0/14^{DE}	3±0/14^{EF}	4/45±0/07^{AB}	2/9±0/14^{CD}	3/3±0/14^{CD}
	48h	3/65±0/07^{BCD}	3/6±0/28^{ABCDEF}	4/6±0/00^{AB}	3/25±0/35^{ABCD}	3/8±0/14^{BC}
	72h	4/25±0/21^{AB}	3/95±0/07^{ABC}	4/85±0/07^{A}	3/75±0/35^{ABC}	4/3±/014^{AB}
%1						
	24h	3/65±0/21^{BCD}	3/1±0/14^{DEF}	4/1±0/14^{BCD}	3/25±0/07^{ABCD}	3/7±0/28^{BC}
	48h	4/15±0/21^{AB}	3/75±0/35^{ABCDE}	4/3±0/14^{ABC}	3/55±0/35^{ABCD}	4/15±0/21^{AB}
	72h	4/6±0/14^{A}	4/05±0/07^{AB}	4/5±0/14^{AB}	4/2±0/14^{A}	4/6±0/14^{A}
%2						
	24h	3/1±0/14^{DE}	3/2±0/14^{CDEF}	3/2±0/28^{EF}	3/3±0/00^{ABCD}	3/15±0/14^{CD}
	48h	3/45±0/07^{CD}	3/85±0/35^{ABCD}	3/5±0/00^{DEF}	3/65±0/21^{ABCD}	3/6±0/14^{BC}
	72h	4/1±0/14^{ABC}	4/2±0/14^{A}	3/65±0/35^{CDE}	4/15±0/21^{AB}	4/1±0/14^{AB}
%3						
	24h	2/65±0/21^{E}	2/8±0/14^{F}	2/9±0/14^{F}	2/7±0/28^{D}	2/85±0/21^{D}
	48h	3/15±0/21^{DE}	3/35±0/21^{BCDEF}	3/2±0/28^{EF}	3/2±0/28^{BCD}	3/35±0/21^{CD}
	72h	3/65±0/21^{BCD}	3/8±0/14^{ABCDE}	3/35±0/21^{EF}	3/7±0/28^{ABC}	3/85±0/21^{BC}

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها می‌باشد (P<0/05).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از آزمون‌های انجام شده، افزایش درصد غلظت پودر جوانه گندم بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی نوشیدنی کفیر تاثیر معناداری می‌گذارد. به‌طوری که نمونه حاوی 3 درصد پودر جوانه گندم بالاترین میزان اسیدیته، اتانول، مخمر و شمارش کلی میکروبی را داشت، همچنین در طول زمان نگهداری، میزان اسیدیته، اتانول و مخمرها در کلیه نمونه‌ها افزایش یافت در حالی که میزان pH، *Lactobacillus*، شمارش کلی میکروبی و ویسکوزیته ظاهری روند کاهشی داشتند و نمونه‌های کفیر حاوی پودر جوانه گندم رفتار جریان غیرنیوتنی را بر طبق مدل قانون توان نشان دادند، از طرفی ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها با افزایش غلظت جوانه گندم کاهش معنی‌داری یافته (P<0/001) و بر طبق نتایج ارزیابی حسی، کفیر تولید شده با یک درصد جوانه گندم بالاترین امتیاز ارزیابی کلی را در 72 ساعت دریافت نمود.

منابع

اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی، شیر و فراورده‌های آن، تعیین اسیدیته و pH، شماره 2852.

Abrahamsen, R. K., & Holmen, T. B. (1980). Yoghurt from hyperfiltrated, ultrafiltrated and evaporated milk and from milk with added milk powder. *Milchwissenschaft*, 35(7), 399-402.

Abrahamsen, R. K., & Holmen, T. B. (1981). Goat's milk yoghurt made from non-homogenized and homogenized milks, concentrated by different methods. *Journal of Dairy Research*, 48(3), 457-463.

Ataollahi, M., Akbari, S. A. A., Mojab, F., & Majd, H. A. (2015). The effect of wheat germ extract on premenstrual syndrome symptoms. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*: IJPR, 14(1), 159.

Batista, A. P., Raymundo, A., Sousa, I., & Empis, J. (2006). Rheological characterization of coloured oil-in-water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases. *Food Hydrocolloids*, 20(1), 44-52.

Bensmira, M., Nsabimana, C., & Jiang, B. (2010). Effects of fermentation conditions and homogenization pressure on the rheological properties of Kefir. *LWT-Food Science and Technology*, 43(8), 1180-1184.

Bylund, G. (1995). Dairy processing handbook. Tetra Pak processing systems. AB. S-221 86. Lund, *Sweden*, 18-23.

Chen, M. J., Liu, J. R., Lin, C. W., & Yeh, Y. T. (2005). Study of the microbial and chemical properties of goat milk kefir produced by inoculation with Taiwanese kefir grains. *Asian-Australasian journal of Animal Sciences*, 18(5), 711-715.

Corona, O., Randazzo, W., Miceli, A., Guarcello, R., Francesca, N., Erten, H., & Settanni, L. (2016). Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 572-581.

Cruz, A. G., Antunes, A. E. C., Faria, J. A. F., Chaves, A. C. S. D., Carvalho, L. M. J., & Saad, S. M. I. (2011). Leites fermentados e iogurtes probióticos e prebióticos. SAAD, SMI; CRUZ, AG da; FARIA, J. de AF Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas. São Paulo: *Varela*, 271-304.

Dadkhah, S., Pourahmad, R., Assadi, M. M., & Moghimi, A. (2011). Kefir production from soymilk. *Ann. Biol. Res*, *2*, 293-299.

Dimitreli, G., Gregoriou, E. A., Kalantzidis, G., & Antoniou, K. D. (2013). Rheological properties of kefir as affected by heat treatment and whey protein addition. *Journal of Texture Studies*, 44(6), 418-423.

Doğan, M. (2011). Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6(3), 327-332.

Grønnevik, H., Falstad, M., & Narvhus, J. A. (2011). Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. *International Dairy Journal*, 21(9), 601-606.

Gul, O., Mortas, M., Atalar, I., Dervisoglu, M., & Kahyaoglu, T. (2015). Manufacture and characterization of kefir made from cow and buffalo milk, using kefir grain and starter culture. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1517-1525.

Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., & Ibanez, F. C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90(4), 613-620.

Katsiari, M. C., Voutsinas, L. P., & Kondyli, E. (2002). Manufacture of yoghurt from stored frozen sheep's milk. Food chemistry, 77(4), 413-420.

Kök-Taş, T., Seydim, A. C., Özer, B., & Guzel-Seydim, Z. B. (2013). Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 780-789.

Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2004). The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International dairy journal*, 14(8), 737-743.

Kwak, H. S., Park, S. K., & Kim, D. S. (1996). Biostabilization of kefir with a nonlactose-fermenting yeast. *Journal of dairy science*, 79(6), 937-942.

Leite, A. M. D. O., Miguel, M. A. L., Peixoto, R. S., Rosado, A. S., Silva, J. T., & Paschoalin, V. M. F. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(2), 341-349.

Liu, J. R., & Lin, C. W. (2000). Production of kefir from soymilk with or without added glucose, lactose, or sucrose. *Journal of Food Science*, 65(4), 716-719.

Mahmoud, A. A., Mohdaly, A. A., & Elneairy, N. A. (2015). Wheat germ: an overview on nutritional value, antioxidant potential and antibacterial characteristics. *Food and Nutrition Sciences*, 6(2), 265.

Moreira-Rosário, A., Pinheiro, H., Calhau, C., & Azevedo, L. F. (2016). Can wheat germ have a beneficial effect on human health? A study protocol for a randomised crossover controlled trial to evaluate its health effects. *BMJ open*, 6(11), e013098.

Morkel, R. A. (2016). Vitamin B12 and folate enrichment of kefir by Propionibacterium freudenreichii and Streptococcus thermophilus strains (Doctoral dissertation, Cape Peninsula University of Technology).

Nalbantoglu, U., Cakar, A., Dogan, H., Abaci, N., Ustek, D., Sayood, K., & Can, H. (2014). Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. *Food Microbiology*, 41, 42-51.

Pham, P. L., I. Dupont, D. Roy, G. Lapointe, and J. Cerning. (2000). Production of exopolysaccharide by Lactobacillus rhamnosus R and analysis of its enzymatic degradation during prolonged fermentation. Appl. Environ. *Microbiol*. 66:2302–2310.

Plessas, S., Nouska, C., Mantzourani, I., Kourkoutas, Y., Alexopoulos, A., & Bezirtzoglou, E. (2016). Microbiological Exploration of Different Types of Kefir Grains. *Fermentation*, 3(1), 1.

Puerari, C., Magalhães, K. T., & Schwan, R. F. (2012). New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Research International*, 48(2), 634-640.

Rattray, F. P. and O'Connell, M. J. (2011). Kefir, Fermented Milks. Encyclopedia of Dairy Sciences, 6095: 518-524.

Rizzello, C. G., Cassone, A., Coda, R., & Gobbetti, M. (2011). Antifungal activity of sourdough fermented wheat germ used as an ingredient for bread making. *Food chemistry*, 127(3), 952-959.

Sayyad, S. A. F., Chaudhari, S. R., & Panda, B. P. (2015). Quantitative determination of ethanol in arishta by using UV-visible spectrophotometer. *Pharmaceutical and Biological Evaluations*, 2(5), 204-207.

Seleet, F. L., Assem, F. M., Abd El-Gawad, M. A., Dabiza, N. M., & Abd El-Salam, M. H. (2016). Development of a novel milk-based fermented product fortified with wheat germ. *International Journal of Dairy Technology*, 69(2), 217-224.

Shah, N. P. (2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of dairy science*, 83(4), 894-907.

Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G., & Spasov, Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28(1), 1-6.

Srivastava, A. K., Sudha, M. L., Baskaran, V., & Leelavathi, K. (2007). Studies on heat stabilized wheat germ and its influence on rheological characteristics of dough. *European Food Research and Technology*, 224(3), 365-372.

Suriasih, K., Aryanta, W. R., Mahardika, G., & Astawa, N. M. (2012). Microbiological and chemical properties of Kefir made of Bali cattle milk. *Food Science and Quality Management*, 6, 2225-0557.

Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (1999). Yoghurt: Science and Technology.,(Woodhead Publishing Ltd: Cambridge, UK).

Zajšek, K., & Goršek, A. (2010). Effect of natural starter culture activity on ethanol content in fermented dairy products. *International journal of dairy technology*, 63(1), 113-118.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 395-406

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 406-395

The effect of wheat germ powder on physicochemical, microbial and sensory properties of kefir beverage

S. Ahmadian Mask[1], F. Tabatabaei Yazdi[2*], S. A. Mortazavi[2], A. Koocheki[2]

Received: 2018.11.19
Accepted: 2019.04.29

Introduction: Kefir is a traditional beverage produced by fermented milk with kefir grains, which is becoming increasingly popular throughout the world due to its health benefits and disease prevention properties beyond its basic nutritional value. The grains contain a mixture of complex microflora such as lactic acid bacteria, yeast and sometimes acetic acid bacteria which are lodged by a polysaccharide matrix calls “kefiran”. Kefir is a self-carbonated beverage that owes its distinctive flavor to a mixture of lactic acid, ethanol, carbon dioxide and other flavor products such as acetaldehyde and acetone. Kefir has been recommended for the treatment of several clinical conditions such as gastrointestinal problems, hypertension, allergies, and ischemic heart disease. Kefir grain fermentations from various substrates have been evaluated and a wide variety of bioactive compounds have been observed, such as organic acids, CO_2, H_2O_2, ethanol, bioactive peptides, exopolysaccharides (kefiran), and bacteriocins. These compounds may act independently or together to produce the various health benefits attributed to kefir consumption. Nowadays, its popularity has been expanded worldwide and it is considered as a healthy product with high nutritional value in Europe, Asia, and South and North America. Wheat germ, corresponding to 2–3% of the total weight of wheat kernel, is almost systematically removed during milling since it adversely affects the keeping and processing quality of the flour. Wheat germ (WG) is widely recognized as a nutritious raw material for incorporation into food product formulations or as an independent food product. Wheat germ, containing about 8% - 14% oil (average 10%), is mainly used in food, medical and cosmetic industries as a source of oil. Unfortunately, the whole quantity of the germ produced in Iran is currently utilized in the production of animal fodder. According to chemical analyses, wheat germ contains magnesium, zinc, calcium, selenium, sodium, potassium, phosphorus, chromium, antioxidants including beta-carotene (for vitamin A), vitamin E, vitamin C, vitamin B_{12}, vitamin B_6, thiamin, riboflavin, niacin, folic acid, iron, amino acids, and enzymes, and has a high dietary and medicinal value. The purpose of this study was to investigate the effects of various concentrations of wheat germ powder on physicochemical, microbial and sensory properties of kefir beverage.

Materials and methods: A commercial freeze-dried Kefir starter culture (ABT_2) was purchased from Chr. Hansen (Denmark) also *Saccharomyces cerevisiae* was supplied from Saf-Levure (France). Cow milk were obtained from the Department of Food Engineering, Ferdowsi University of Iran. Wheat germ was supplied from Isar Qaynat Co. All chemicals were from Merck Co.

Steam stabilized wheat germ powder at 1, 2 and 3% levels with DVS starter and *Saccharomyces cerevisiae* at 25 ° C were transferred to full fat cow’s milk and the fermentation was ended at pH 4.6. Microbial, physicochemical and sensory tests were performed at 24, 48 and 72 hours after inoculation. The pH and acidity of kefir were determined according to National Iranian Standard Number 2852. The viscosity was also determined using a Brookfield viscometer (spindle 3, USA) at the temperature of 5°C and a shear rate of 80.0 1/s. Spectroscopic measurement of alcohol was performed according to Sayyad et al. (2015). *Lactobacilli* counts were performed on MRS medium at an incubation temperature of 37°C for 3 days. Yeasts counts were carried out on YGC at an incubation temperature of 25°C for 5 days. Total counts were performed on PCA at an incubation temperature of 30°C for 2 days. All statistical calculations were completed using the Minitab Version 16. Analysis of variance (ANOVA) was carried out using the general linear model (glm) procedure and Tukey test was used to determine the differences among means.

Results and discussion: Wheat germ is a by-product derived from the wheat milling industry and is a rich source of vitamins, proteins, dietary fiber and minerals. Due to its antioxidant, sterol and essential amino acids contents, it has a lot of health effects and is known as a nutritious raw material for its composition in food formulations. Therefore, in this study it was used to produce kefir beverage to produce a high-nutritional product. Based on the obtained results, increasing the percentage of wheat germ powder concentration on the physicochemical, microbial and sensory properties of kefir

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

beverage has a significant effect. The sample containing 3% wheat germ powder showed the highest acidity, ethanol, yeast and total microbial count, during the storage period, acidity, ethanol and yeasts increased in all samples, while pH, *Lactobacilli*, total microbial count and apparent viscosity had decreasing trend and samples of kefir containing wheat germ powder showed non-Newtonian flow behavior according to the power law model. On the other hand, the apparent viscosity of the samples significantly decreased with increasing wheat germ concentration. According to the sensory evaluation results, kefir produced with one percent wheat germ received the highest overall score within 72 hours after inoculation.

Key words: Kefir, Wheat germ, Viscosity, Microbial count, Sensory analysis

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 407-417

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر- آبان 1398، ص. 417-407

تاثیر توام نانوذرات نقره/ اکسید روی بر خواص کاربردی فیلم‌های بسته‌بندی پلی‌وینیل الکل

زهرا کریمی ولوجایی[1]- محمدحسین عباسپور فرد*[2]- محمدحسین آق خانی[2]- سعید طریقی[3]

تاریخ دریافت: 1397/02/26
تاریخ پذیرش: 1397/10/09

چکیده

در این تحقیق، تاثیر افزودن توام نانوذرات نقره و اکسید روی در بستر پلیمر پلی وینیل الکل برای تهیه فیلم بسته‌بندی مواد غذایی بر خواص ساختاری و فیزیکی آنها مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز ساختاری نانوذرات توسط آزمون میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی شد که نشان داد نانوذرات نقره مورد استفاده ساختار نسبتا کروی و نانوذرات اکسید روی ساختاری میله‌ای و اندازه متوسط آن‌ها به ترتیب کمتر از 32 و 40 نانومتر است. برای تهیه فیلم های نانوکامپوزیتی، نانوذرات نقره و اکسید روی به صورت مجزا و توام (ترکیبی) در سطح 3% با روش همزدن حلالی به شبکه پلی وینیل الکل، اضافه شد. نحوه پراکنش نانوذرات در بستر پلیمر و ویژگی سطحی نانوکامپوزیت‌ها با استفاده از آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. نمای سطحی فیلم‌ها نشان داد که در همه نانوکامپوزیت‌ها، نانو ذرات نقره و اکسید روی به طور یکنواخت پخش شدند. با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز و پراش پرتو ایکس مشخص گردید که پیوند بین زنجیره‌های پلیمری پلی وینیل الکل و نانوذرات نقره و اکسید روی برقرار و دارای ساختار کریستالی است. با افزودن توام نانوذرات نقره و اکسید روی در بستر پلیمر، مقاومت کششی حدود 120% افزایش و ازدیاد طول و میزان نفوذ پذیری فیلم‌ها نسبت به بخار آب به ترتیب حدود 20% و 75% کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: پلی وینیل الکل، نانوذرات اکسید روی، نانوذرات نقره، نانوکامپوزیت‌ها

مقدمه

روند افزایشی ضایعات مواد غذایی، یکی از چالش‌های جدی اکثر کشورها است. در چند دهه اخیر شاهد افزایش قابلیت‌های مطلوبی چون طولانی‌تر کردن عمر مواد غذایی با روش‌های مختلف، بوده‌اند. بسته‌بندی نیز یکی از روش های مؤثری است که با استفاده از آن می‌توان زمان ماندگاری و کیفیت مواد غذایی را افزایش داد (احمدی و همکاران، 1392). اولین و مهم‌ترین هدف از بسته‌بندی مواد غذایی محافظت محصول و حفظ کیفیت آن‌ها در زنجیره بازاریابی و مصرف می‌باشد. برای رسیدن به این هدف، بسته‌بندی مواد غذایی بایستی ضمن اینکه مقاومت مکانیکی مطلوبی داشته باشد، بسته به نوع محصول، نفوذپذیری بسیار کمی در مقابل بخار آب، اکسیژن و نور نیز داشته باشد (Robertson, 2016).

امروزه بیشترین موادی که برای بسته‌بندی مواد غذایی استفاده می‌شود منشاء نفتی دارند که غیرقابل تجزیه و یا به سختی قابل تجزیه هستند. نگرانی‌های زیست محیطی ناشی از مصرف این مواد سبب شده که در سال‌های اخیر فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر مورد توجه پژوهشگران قرار بگیرد. با این وجود استفاده از فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر به دلیل مشکلاتی مانند شکننده بودن و ممانعت ضعیف در برابر اکسیژن و بخار آب، کاربردهای محدودی دارند.

این امکان وجود دارد تا با استفاده از فناوری نانو، خواص مکانیکی و تراوایی فیلم‌های بسته‌بندی زیست تخریب‌پذیر را بهبود بخشید. نانوفناوری شامل مشخصه‌یابی، ساخت و به‌کارگیری ساختارها، قطعات یا موادی است که حداقل دارای یک بعد با اندازه بین 1 تا 100 نانومتر هستند، وقتی اندازه ذرات از این حد کمتر می‌شود، ماده حاصل خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی از خود نشان می‌دهد که به‌طور معنی‌داری متفاوت از خواص موادی است که از این ذرات و در اندازه‌های بزرگتر حاصل می‌شوند (Roco *et al.*, 2011). بهبود ویژگی‌های نانوکامپوزیت‌ها، عمدتاً مربوط به بالا بودن سطح ویژه نانوذرات به‌کار رفته در آنها و همچنین پخش یکنواخت ذرات نانو در ماتریس پلیمر می‌باشد (فرهودی و همکاران، 1395). فناوری نوظهور نانو به دلیل اثرات منحصر به فردی که در تولید مواد مختلف نشان می‌دهد در رشته‌ها و گرایش‌های علوم مختلف به‌کار گرفته شده است. تحقیقات

1 و 2- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استاد، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
3- دانشیار، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
(* - نویسنده مسئول: Email: abaspour@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.72770

انجام شده روی این فناوری در زمینه فیلم‌های مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی نشان داده‌اندکه این فناوری می‌تواند محدودیت‌های عملکردی فیلم‌های بسته‌بندی رایج را کم رنگ یا برطرف نماید.

با وجود تنوع عامل های تقویت‌کننده، جستجو برای عامل‌های موثر، بر توسعه نانو ساختارهای فلزات خاص مانند نقره، طلا، اکسید روی و مس متمرکز شده است. در این بین نانوذرات نقره و اکسید روی کاربرد بیشتری در پژوهش‌ها دارند. نانوذرات نقره دارای خلوص بالا و ساختار کریستالی هستند. در حالت یونی اثر ضدمیکروبی آن بیشتر، اما حالت سمی دارد. از آنجا که نانوذرات سطح موثر بیشتری نسبت به ذرات بزرگتر دارند، از لحاظ شیمیایی فعال‌تر از ذرات بزرگ نقره هستند (Mendes *et al*., 2012). به‌منظورکاهش هزینه‌ها، اخیرا پروژه‌های تحقیقاتی در این حوزه بر استفاده از نانوذرات ارزان‌تر مثل اکسید روی متمرکز شده‌اند (Tankhiwale *et al*., 2012). در این راستا، نانوذرات اکسید روی به علت خواص فیزیکی و شیمیایی پایدار، غیرسمی و قیمت کم، به‌طور گسترده مورد توجه قرار گرفته اند (Yamamoto *et al*., 1998).

پلی‌وینیل الکل یکی از فراوان‌ترین پلیمرهای سنتزی (تجزیه‌ناپذیر) قطبی در دنیا است که زیست تخریب‌پذیری آن در محیط از مهم‌ترین ویژگی آن است که جایگزین مناسبی برای پلیمرهای صنعتی و سنتزی می‌باشد. به‌طور کلی ترکیب اکسید روی و نقره در پلی‌وینیل الکل سبب بهبود خواص مکانیکی و نفوذپذیری آن می‌شود.

از نانوذرات نقره و اکسید روی در پژوهش‌های مربوط به بسته‌بندی مواد غذایی استفاده‌های زیادی شده‌است، برای مثال در پژوهشی با اضافه نمودن نانو ذرات اکسید روی به پلی‌وینیل الکل خواص مکانیکی فیلم تهیه شده از این مواد اصلاح، میزان نفوذپذیری بخار آب کاهش و خواص ضدمیکروبی خوبی از خود نشان داد (Gharoy Ahangar *et al*., 2015). در مطالعه‌ای دیگر اثر نانوکامپوزیت نقره بر حفظ کیفیت پنیر مورد بررسی قرار گرفت و به این نتیجه دست یافتند هنگامی که از نانوکامپوزیت با آب نمک استفاده کنند، عمر مفید آن تا 10 روز افزایش می‌یابد (Mastromatteo *et al*., 2015). در تحقیقی دیگر فیلم‌های نانو کامپوزیتی پلی اتیلن حاوی نقره و اکسید روی برای بسته‌بندی آب پرتقال بررسی شد و نتایج نشان داد که بسته‌های حاوی ذرات نانویی تاثیر چشمگیری در افزایش عمر مفید آب پرتقال دارد (Emamifar *et al*., 2011). همچنین در پژوهشی با ترکیب نقره و اکسید روی در پلیمر پلی اتیلن به خاصیت ضدمیکروبی و افزایش ماندگاری گوشت دست یافتند (Panea *et al*., 2014).

سایر محققین از نانو ذرات نقره و اکسید روی به‌صورت ترکیبی استفاده کرده‌اند ولی مقایسه‌ای بین نانوذرات نقره و اکسید روی به‌صورت مجزا و ترکیبی انجام ندادند. علاوه بر این، میزان استفاده از نانوذرات نقره و اکسیدروی در این پژوهش، از مطالعات دیگر محققان متفاوت است. در ادامه نحوه پراکنش نانوذرات نقره و اکسید روی به‌صورت مجزا و ترکیبی در بستر پلی‌وینیل الکل مورد مطالعه قرار گرفته و خواص نانو کامپوزیت‌های حاصل (شامل خواص مکانیکی، خواص رنگی و خواص رطوبتی) با فیلم پلی‌وینیل الکل خالص مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این پژوهش، پودر نانوذرات نقره و اکسید روی از شرکت بازرگانی آسیا پژوهش تحت نظر ستاد نانو، پلی‌وینیل الکل (V2000) (Aldrich، آلمان)، گلیسرول (Merck، آلمان و آب یون‌زدایی شده برای ساخت نانوکامپوزیت مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین مشخصات نانوذرات (TEM)

برای مشخص کردن ابعاد نانوذرات و تعیین چگونگی توزیع اندازه ذره‌ها، از آزمون میکروسکوپ الکترونی عبوریبا دستگاه التراسونیک (Leo 912AB، آلمان) استفاده شد.

آماده سازی ماتریس پلیمری

برای تهیه محلول 5 درصد وزنی از پلیمر، مقدار مشخصی از گلیسیرول (1% وزنی) مورد نیاز با استفاده از ترازوی دیجیتال (دقت 0/01 گرم) اندازه‌گیری و در درون بشر ریخته شد. سپس میزان باقی مانده درصد وزنی، آب دیونیزه به آن اضافه شد. محلول روی همزن مغناطیسی قرار داده شد و پلی‌وینیل الکل به تدریج به محلول اضافه تا بخوبی در آب حل شود. برای کنترل دما حین حل شدن پلیمر، بشر حاوی محلول پلیمری در داخل حمام روغن با دمای 70 تا 75 درجه سلسیوس قرار گرفت.

ساخت نانوکامپوزیت

پودر نانو نقره و اکسید روی به‌صورت مجزا و به‌صورت ترکیبی (با نسبت مساوی از نقره و اکسید روی) به‌صورت 3 درصد وزنی به محلول پلیمری اضافه شد و به مدت یک شبانه‌روز و در دمای محیط توسط همزن مغناطیسی در محلول پلیمری پراکنده شد. تحقیقات متعددی نشان دادند که نانوذرات به میزان 3 درصد وزنی در بستر پلیمر، دارای بهترین خواص مکانیکی و نفوذپذیری می‌باشد (Gharoy Ahangar *et al*., 2015; Shahabi-Ghahfarrokhi *et al*., 2015). پس از آن با توجه به سطح پتری دیش و ضخامت در نظر گرفته شده برای فیلم‌ها حجم معینی از محلول پلیمری در پتری دیش ریخته شد و برای خشک شدن فیلم ایجاد شده، پتری دیش به مدت 72 ساعت در دمای محیط قرار گرفت. در نهایت پس از خشک شدن، فیلم حاصله به سهولت از سطح پتری دیش جدا شد.

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

برای تعیین ویژگی‌های سطحی نمونه‌ها از قبیل خصوصیات سطوح، شکل، اندازه و نحوه قرارگیری ذرات در سطح فیلم‌ها، از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل (LEO 1450VP، آلمان) استفاده شد. نمونه‌های فیلم ابتدا به مدت کوتاهی در نیتروژن مایع فرو برده شدند. پس از چند ثانیه نمونه‌ها ترد شده به‌طوری که با اعمال نیرویی کوچک و کمترین تنش ممکنه از مقطع عرضی برش خوردند. سپس نمونه‌های برش خورده روی پایه‌های استوانه‌ای قرار گرفته و پوشش‌دهی طلا روی آن‌ها انجام گرفت و برای تصویربرداری با کاربری 20 کیلووات آماده شدند.

طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)

به منظور بررسی پیوندهای بین اجزاء فیلم های نانوکامپوزیتی تهیه شده، از روش طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز نیز استفاده شد. فیلم‌های نانوکامپوزیتی ساخته شده توسط دستگاه طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز مدل (Avatar 370، آمریکا) و در محدوده عدد موجی cm^{-1} 450-4000 مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)

برای تایید جنس ماده و مشخص کردن ساختار کریستالی از آزمون پراکنش ایکس استفاده شد. این آزمون با استفاده از دستگاه X' Pert MPD با پرتوی با طول موج 1/54439 آنگستروم با ماده آندی کبالت در زاویه 80-10 =2θ درجه، در دمای محیط و با سرعت یک درجه بر دقیقه مورد سنجش قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخار آب

برای اندازه‌گیری میزان نفوذ پذیری فیلم‌ها از روش شماره E96 مصوب ASTM استفاده شد (ASTM, 1995). ابتدا درون سلول‌های اندازه‌گیری نفوذپذیری[1]، آب ریخته شد و سپس سطح سلول به‌وسیله فیلم با ضخامت 80 میکرومتر پوشانده شد و سلول‌ها درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفتند. اختلاف رطوبت در دو سمت فیلم در دمای 25 درجه سلسیوس اختلاف فشار بخاری معادل $2/337 \times 10^3$ کیلوپاسکال ایجاد می‌کند. نرخ انتقال بخار آب بر حسب گرم بر ثانیه بر متر مربع ($g\ s^{-1}\ m^{-2}$) معادل با شیب خطوط حاصله تقسیم بر سطح سلول بود که از رابطه 1 حاصل شد. سطح سلول‌ها 0/00287 متر مربع بود.

(1) نرخ انتقال بخار آب =شیب خط/ سطح سلول

از ضرب نرخ انتقال بخار آب در ضخامت روکش‌ها و تقسیم آن در اختلاف فشار موجود در دو سمت فیلم میزان نفوذپذیری بخار آب بر حسب گرم بر ثانیه بر متر بر پاسکال ($g\ s^{-1}\ m^{-1}\ Pa^{-1}$) بدست آمد.

ارزیابی خواص مکانیکی فیلم‌ها

آزمون کشش با استفاده از دستگاه بافت‌سنج کششی (H5 KS، انگلستان) انجام گرفت. قبل از انجام آزمایشات کشش تمامی نمونه‌ها از نظر رطوبتی تعدیل گردیدند. فاصله بین دو فک دستگاه 5 سانتی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها 50 میلی‌متر بر دقیقه انتخاب شد (Abdollahi *et al.*, 2013). فاکتورهایی شامل مقاومت کششی، درصد افزایش طول در نقطه شکست (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در 100) مطابق استاندارد شماره D882-01 مصوب ASTM از روی منحنی‌های نیرو- تغییر شکل به‌دست آمدند (ASTM, 2002).

سنجش رنگ و شفافیت فیلم‌ها

سنجش رنگ و شفافیت فیلم‌ها با استفاده از دستگاه هانترلب (Color Flex، انگلستان) روی نمونه‌ها ارزیابی شد. نمونه‌های شاهد (فیلم‌های پلی‌وینیل الکل خالص) مبنا در نظر گرفته شد و بر اساس آن نمونه‌های مورد آزمایش (نانوکامپوزیت‌های اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی) مورد بررسی قرار گرفت. رنگ فیلم‌ها به‌وسیله بازتاب روی رنگ سنج هانترلب با شاخص‌های L*، a*، b* اندازه گیری و ΔE^2 به کمک رابطه ذیل محاسبه شد.

$$\Delta E=\sqrt{(L^*-L_{std})^2+(a^*-a_{std})^2+(b^*-b_{std})^2} \qquad (2)$$

در رابطه فوق پارامترهای ΔE تفاوت کل رنگ، L^* مقدار روشنی نانوکامپوزیت، L_{std} مقدار روشنی فیلم شاهد، a^* مقدار قرمزی نانوکامپوزیت، a_{std} مقدار قرمزی فیلم شاهد، b^* مقدار زردی نانوکامپوزیت و b_{est} مقدار زردی فیلم شاهد را نشان می‌دهند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

مقایسه آماری فاکتورهای (تاثیر نانوذرات نقره، اکسید روی و ترکیب نقره و اکسید روی بر خواص مکانیکی، رنگی و نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها) بیان شده و بررسی معنی‌داری اختلافات در نوع نانوذرات از طریق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه در قالب طرح کاملا تصادفی و مقایسه میانگین‌ها (آزمون دانکن) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 16 ساخت کشور آمریکا انجام گرفت.

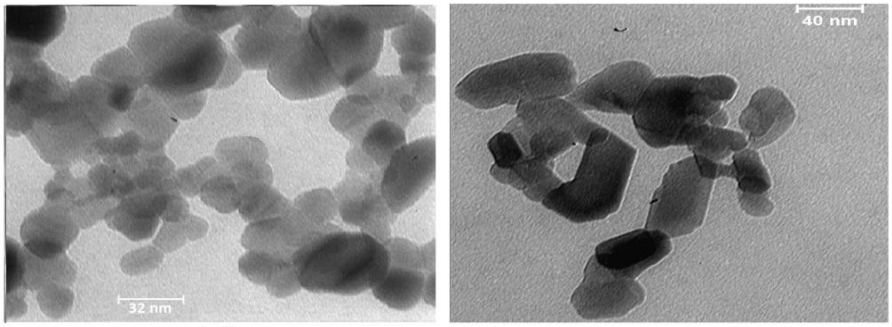
نتایج و بحث

آزمون میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

1 Diffusion Cell

2 Total Color Difference

شکل 1 تصاویر گرفته شده توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری از نانوذرات نقره و اکسید روی را نشان می‌دهد. بررسی و تجزیه و تحلیل دقیق‌تر این تصاویر حاکی از ساختار میله‌ای نانوذرات اکسید روی و ساختار نسبتا کروی نانوذرات نقره است. این نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات نقره و اکسید روی دارای ساختار منظم و کریستالی بوده که با نتایج دیگر محققان مطابقت دارد (Fernandez *et al*., 2017). همچنین اندازه متوسط ذرات اکسید روی و نقره به‌ترتیب کمتر از 40 و 32 نانومتر است که حاکی از اندازه بسیار خوب این نانوذرات بوده و هر چه اندازه نانوذرات کوچک‌تر باشد، میزان پخش شدن آن‌ها در بستر پلیمر سریع‌تر و راحت‌تر خواهد بود (گودرزی، 1386).



(الف) (ب)

شکل 1- تصویر میکروسکوپ عبوری TEM- الف) نانوذرات اکسید روی- ب) نانوذرات نقره

آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

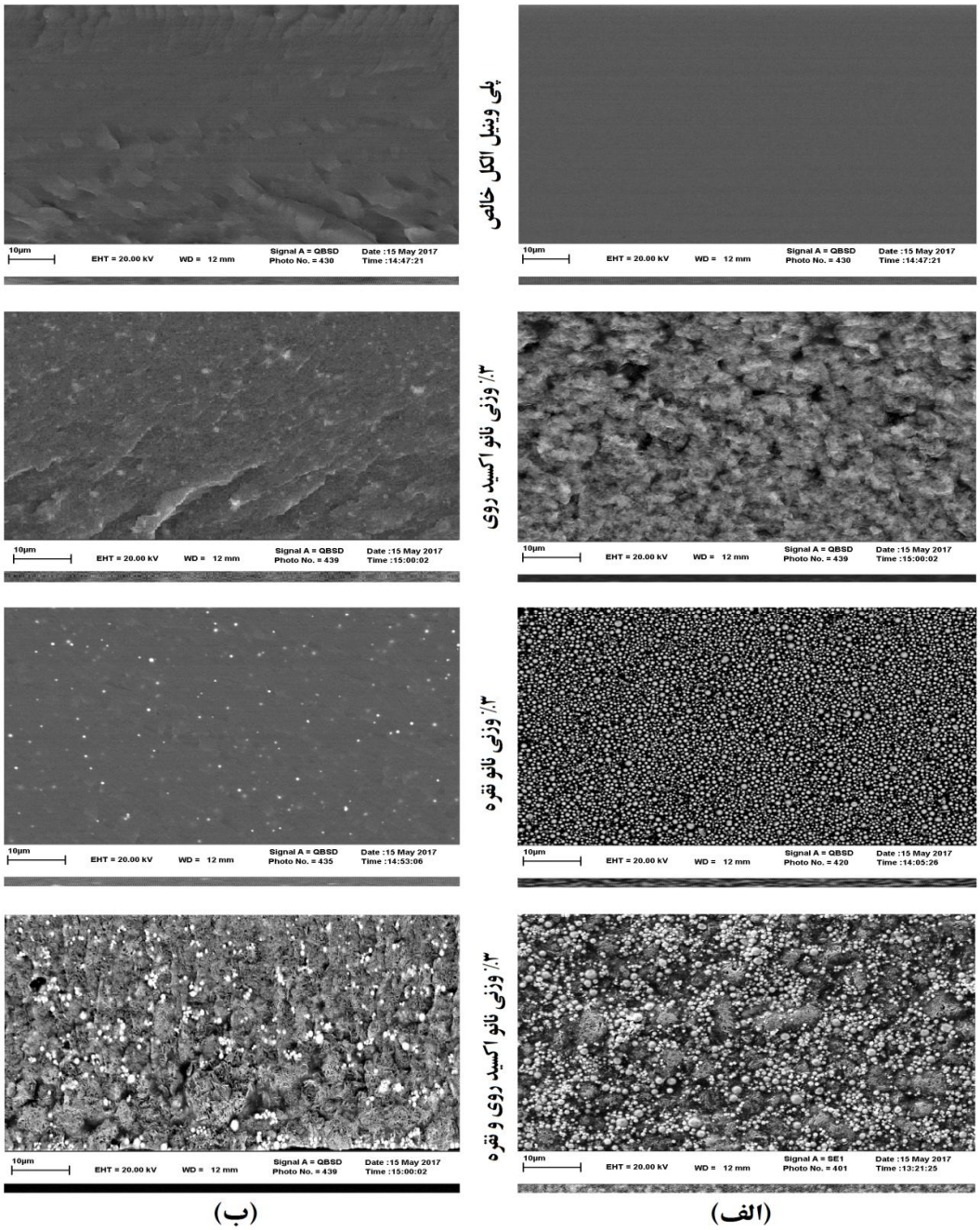
شکل 2 تصاویر تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی از فیلم پلی وینیل الکل خالص و فیلم های نانوکامپوزیتی حاوی نقره، اکسید روی و ترکیب نقره و اکسید روی با غلظت 3 درصد وزنی را نشان می‌دهد. تصاویر فیلم شاهد، نشان دهنده مورفولوژی الیاف پلی‌وینیل الکل (تصویر سطح مقطع) و همچنین سطحی کاملا همگن و مسطح است. همانطور که از تصاویر فیلم نانوکامپوزیت نقره تنها و اکسید روی تنها مشخص است، نانوذرات نقره و اکسید روی با شکل کروی و میله‌ای به‌صورت یکنواخت در تمام سطح پلیمر پخش شده اند و سطحی کاملا یکنواخت را نشان می‌دهند. همچنین تصاویر فیلم نانوکامپوزیت ترکیبی نقره و اکسید روی نشان می‌دهند که نانوذرات نقره بر روی شکل میله‌ای نانوذرات اکسید روی قرار گرفته و هر دو نانوذره به‌طور کامل در بستر پلیمر پخش شده و فیلمی همگن وکاملا یکنواخت را به وجود آورده اند. این تصاویر نشان می‌دهند که فیلم‌های مورد مطالعه بدون ترک و نانوذرات به نحو مطلوبی در ماتریس پلیمری توزیع شده و با توصیفی که دیگر محققین ارائه نموده‌اند با وجود اختلاف در میزان نانوذره مصرفی، مطابقت دارد (Hamza *et al*., 2017; Halder *et al*., 2017).

این ساختار مطلوب نشان می‌دهد که میزان غلظت نانوذرات در بستر پلیمری به درستی انتخاب شده‌اند، ساختارهای به‌هم فشرده تاییدکننده پخش مناسب ذرات در ماتریس پلیمری بوده و منتج شده از عوامل مختلفی نظیر برهمکنش‌های واندرووالسی، الکترواستاتیکی و یا پیوندهای کووالانسی می‌باشند (حسین‌زاده و همکاران، 2016). در این راستا محققان به این نتیجه رسیدند که افزودن نانوذرات از یک مقادیر خاص به بعد موجب عدم پخش مناسب آنها و حتی باعث کاهش خاصیت ضدمیکروبی فیلم نیز خواهد شد که این می‌تواند ناشی از تجمع (آگلومریزاسیون) و در واقع کاهش سطح نسبت به حجم کلی نانوذرات باشد (Zapata *et al*., 2011; Arora *et al*., 2009; Sorrentino *et al*., 2007).

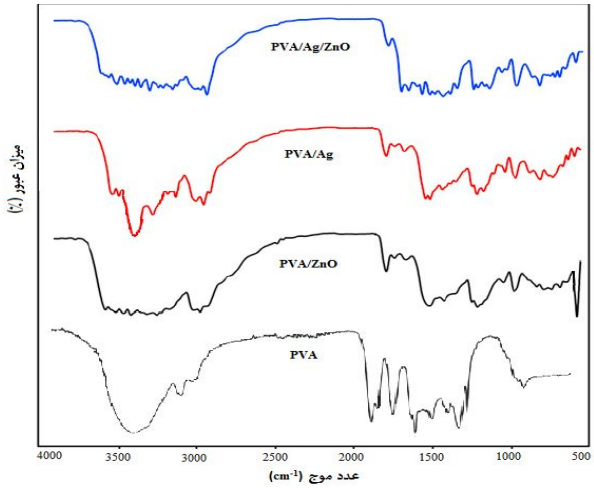
طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)

شکل 3 نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز پلی‌وینیل الکل و نانوکامپوزیت اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی را نشان می¬دهد. پیک‌های شدید و وسیع طیف گرفته شده از نانو کامپوزیت¬ها در 1097، 1432، 2940 و 3461 cm^{-1} به علت گروه C-O، C-C، C-H2 و O-H می‌باشد. نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز نانوکامپوزیت اکسید روی نشان می‌دهد که پیک 595cm^{-1} مربوط به باند Zn-O و پیک 3410 cm^{-1} مربوط به باند O-H بوده و از حضور نانوذرات اکسید روی در بستر پلیمر پلی وینیل الکل خبر می‌دهد. تعویض پیک از 460 cm^{-1} نانوذرات اکسید روی به 595 cm^{-1} در نانوکامپوزیت اکسید روی ممکن است به دلیل برهمکنش متقابل نانوذرات اکسید روی و پلی‌وینیل الکل باشد که با نتایج دیگر محققین مطابقت دارد (Gharoy Ahangar *et al*., 2015; Ghanipour *et al*., 2013). همچنین تعامل نانوذرات نقره و پلیمر پلی‌وینیل الکل از طریق پیوند O-H مربوط به پیک 3420 cm^{-1} است. به‌طور تقریبی می‌توان گفت تمامی پیک‌های موجود در فیلم نانوکامپوزیت ترکیبی نقره و اکسید روی، متشکل از پیک‌های FTIR نانوذرات اکسید روی، نقره و پلیمر پلی‌وینیل الکل می‌باشد که نشان‌دهنده حضور نانوذرات

اکسید روی، نقره و تعامل مناسب بین بستر پلیمری پلی‌وینیل الکل و نانوذرات نقره و اکسـید روی اسـت که دیگر محققین نیز به ان اشاره نموده¬اند (Hamza et al., 2017).



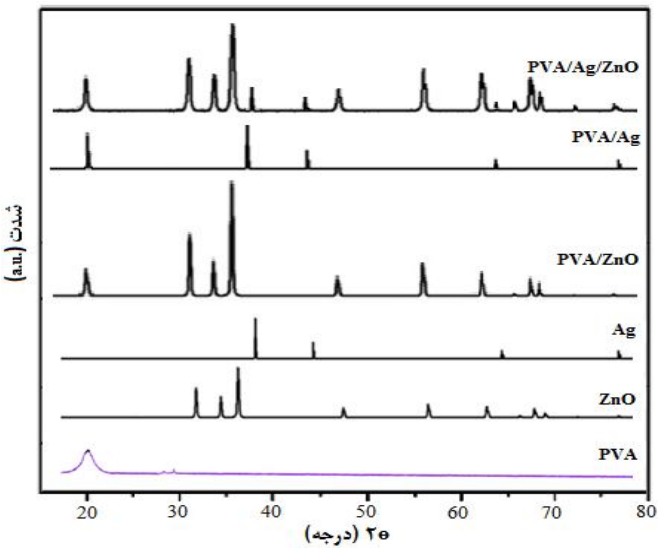
شکل 2- تصاویر میکروسکوپ الکترون روبشی SEM: الف) از بالا به پایین، تصاویر سطوح فیلم پلی‌وینیل الکل خالص، نانو اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی- ب) از بالا به پایین، تصاویر مقاطع برش خورده فیلم پلی‌وینیل الکل خالص، نانوکامپوزیت اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی



شکل 3- طیف‌های مادون قرمز گرفته شده از پلی‌وینیل الکل، نانوکامپوزیت حاوی نقره، اکسید روی و ترکیب نقره و اکسید روی

پراش پرتو ایکس (XRD)

پراش پرتو ایکس به‌منظور بررسی اثرات ناشی از حضور نانوذرات نقره و اکسید روی بر ساختارهای کریستالی فیلم‌های نانوکامپوزیتی ارائه شده است (شکل 4). همانطور که مشاهده می‌شود در همه فیلم‌ها اعم از پلی‌وینیل الکل خالص و نانوکامپوزیت اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی در $2\theta = 19/98^{\circ}$ پیک رخ داده است که نشان می‌دهد که پلی‌وینیل الکل دارای نواحی کریستالی است. قله‌های پراکندگی مربوط به $38/23^{\circ}$، $44/11^{\circ}$، $64/45^{\circ}$ و $76/89^{\circ}$ نشان‌دهنده ساختار مکعبی نانوذرات نقره بوده است. همچنین الگوی پراش ایکس در پیک‌های مشخص شده مربوط به $32/1^{\circ}$، $34/51^{\circ}$، $36/47^{\circ}$، $47/85^{\circ}$، $56/95^{\circ}$، $63/15^{\circ}$، $66/5^{\circ}$ و $68/11^{\circ}$ ساختار شش گوشه نانوذرات اکسید روی را تایید می‌کند. قله پراکندگی در $2\theta = 19/98^{\circ}$ مربوط به پلیمر پلی‌وینیل الکل در تمام نانوکامپوزیت‌ها وجود دارد که نشان‌دهنده حضور نانوذرات اکسید روی و نقره به‌صورت مجزا و ترکیبی در بستر پلی‌وینیل الکل است. حضور نانوذرات نقره و اکسید روی در بستر پلیمر پلی‌وینیل الکل، باعث تشدید ساختارهای بلوری می‌شود. شدت کریستاله شدن در نانوکامپوزیت نقره بیشتر از دو نانوکامپوزیت دیگر بود. باریک شدن پیک‌های مشخصه پلی‌وینیل الکل در نانوکامپوزیت نقره بیانگر این پدیده می‌باشند (Abdelghany *et al*., 2016; Fernandes *et al*., 2011).

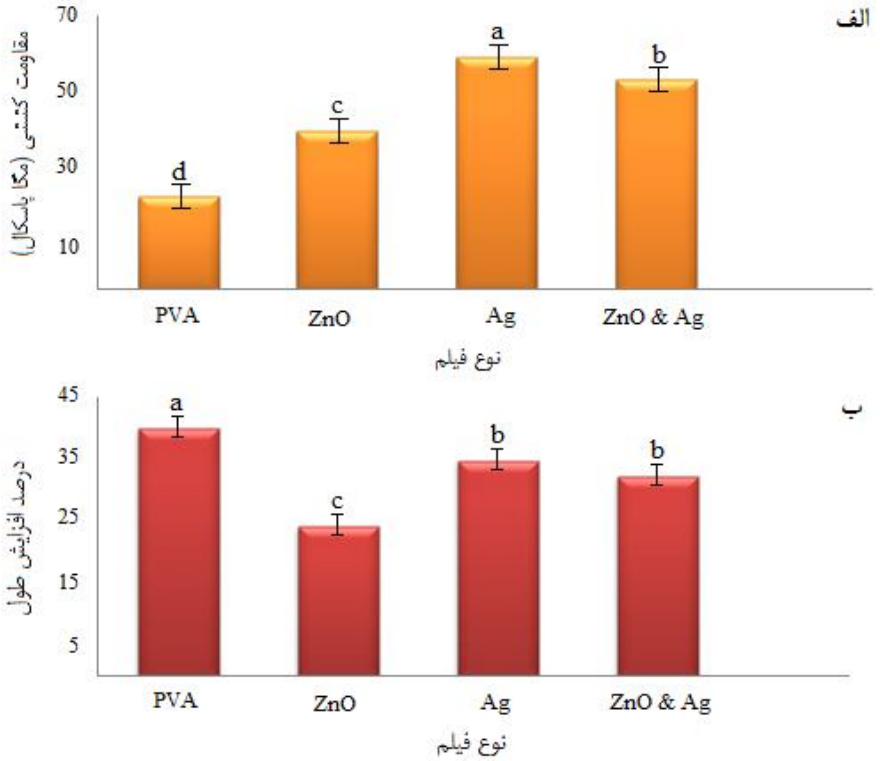


شکل 4- طیف پراکنش اشعه ایکس پلی‌وینیل الکل، نانوذرات اکسید روی، نقره، نانوکامپوزیت‌های حاوی اکسید روی، نقره و ترکیبی نقره و اکسید روی

خواص مکانیکی فیلم‌ها

شکل 5 تاثیر اضافه نمودن نانوذرات اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی به مقدار 3 درصد وزنی بر مقاومت کششی و درصد ازدیاد طول فیلم‌های پلی‌وینیل الکل را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد که اثر نانوذرات اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی بر افزایش مقاومت کششی و کاهش افزایش طول تا نقطه پاره شدن فیلم معنی‌دار است (Oun and Rhim, 2017; Ahmed *et al.*, 2016). در عین حال میزان مقاومت کششی و درصد ازدیاد طول در نانوکامپوزیت حاوی نقره تنها در مقایسه با نانوکامپوزیت ترکیبی نقره و اکسید روی اختلاف زیادی نداشته ولی در مقایسه با نانوکامپوزیت اکسید روی تنها این اختلاف قابل توجه است.

این امر را می‌توان به دلیل بیشتر بودن شدت کریستاله به عبارتی برهمکنش و سازگاری بهتر در نانوکامپوزیت نقره از دو نانوکامپوزیت دیگر که پیش‌تر با انجام آزمون پراش پرتو ایکس ثابت شد، نسبت داد. تشدید کریستاله شدن پلیمر در حضور نانوذرات نقره، موجب افزایش انسجام و تراکم بین زنجیره‌های پلیمر و کاهش فضای آزاد بین آنها می‌شود و این امر می‌تواند دلیلی برای افزایش مقاومت کششی و کاهش ازدیاد طول فیلم‌های نانوکامپوزیتی محسوب شود (Sorrentino *et al.*, 2007).



شکل 5- تاثیر افزودن 3 درصد وزنی نانوذرات اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی بر میزان- الف) مقاومت کششی و ب) ازدیاد طول فیلم‌ها

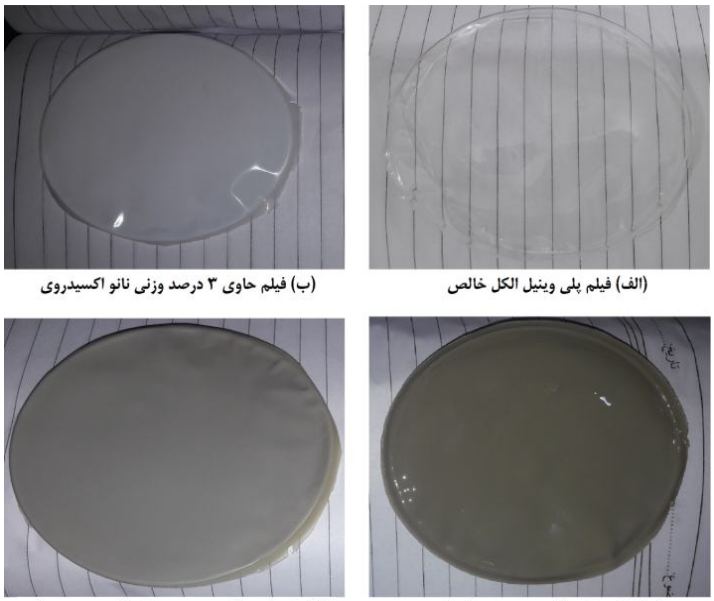
شفافیت فیلم

رنگ و شفافیت بسته‌بندی مواد غذایی، نقش مهمی در ظاهر و مقبولیت آنها توسط مصرف کننده دارد. برای بیان شفافیت فیلم‌ها از شاخص تیرگی (کدری) استفاده می‌شود، به طوری که با افزایش کدری از شفافیت فیلم کاسته می‌شود (Perda *et al.*, 2011).

مقادیر کدری نمونه شاهد (پلی‌وینیل الکل خالص) و نانوکامپوزیت‌های اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی در جدول 1 و شکل 6 مشاهده می‌شود. طبق نتایج حاصل از رنگ‌سنجی، فیلم پلی‌وینیل الکل خالص (شاهد) از شفافیت بیشتری برخوردار است و با افزودن نانوذرات نقره و اکسید روی از شفافیت فیلم کاسته شده است. نانوکامپوزیت نقره دارای بالاترین مقدار تیرگی (a* و b*) و نانوکامپوزیت اکسید روی دارای بالاترین مقدار روشنایی (L*) است. کاهش این شفافیت می‌تواند به دو علت باشد، دلیل اول افزودن نانوذرات نقره و اکسید روی در بستر پلی‌وینیل الکل و تجمع این نانوذرات می‌باشد که این تجمع پیش‌تر در تصاویر گرفته شده از سطح نانوکامپوزیت‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (شکل 2) و خواص مکانیکی (شکل 5) اثبات می‌کند. دلیل دوم خاصیت ذاتی نانوذرات نقره و اکسید روی در جذب نور بوده که سبب می‌گردد فیلم‌ها تیره و روشن به‌نظر رسند که مشابه این نتایج توسط قدسی و همکاران (1392) و عبداللهی و همکاران (2012) گزارش شده است.

جدول 1- تاثیر افزودن 3 درصد وزنی نانوذرات اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی بر شفافیت فیلم‌ها

نوع فیلم‌ها	L*	a*	b*	ΔE
PVA	89/43±0/05	-1/02 ±0/09	1/76 ±0/04	0
ZnO	105/04 ±0/08	-1/81 ±0/03	1/47 ±0/07	15/86 ±0/02
Ag	52/98 ±0/02	10/97 ±0/06	18/17 ±0/05	41/74 ±0/05
ZnO & Ag	63/25 ±0/12	8/07 ±0/10	14/14 ±0/03	30/35 ±0/01



(الف) فیلم پلی وینیل الکل خالص

(ب) فیلم حاوی ۳ درصد وزنی نانو اکسیدروی

(ج) فیلم حاوی ۳ درصد وزنی نانو نقره

(د) فیلم حاوی ۳ درصد وزنی نانو اکسیدروی و نقره

شکل 6- تاثیر نوع نانوذرات بر شفافیت فیلم‌ها الف) فیلم حاوی پلی‌وینیل الکل خالص- ب) فیلم حاوی 3 درصد وزنی نانوذرات اکسید روی- ج) فیلم حاوی 3 درصد وزنی نانوذرات نقره- د) فیلم حاوی 3 درصد وزنی ترکیب نانوذرات نقره و اکسید روی

نفوذپذیری بخار آب

بالا بودن رطوبت نسبی محیط و یا محل نگهداری، یکی از عوامل اصلی بروز فساد در مواد غذایی محسوب می‌شود. در شکل 7 نتایج نشان می‌دهد که میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌های نانوکامپوزیتی به‌طور چشمگیری کمتر از فیلم پلی‌وینیل الکل خالص است که با نتایج دیگر محققان مطابقت دارد (Shahabi-Ghahfarrokhi *et al*., 2015; Oun *et al*., 2017).

شکل 7- تاثیر افزودن 3 درصد وزنی نانوذرات اکسید روی، نقره و ترکیب نقره و اکسید روی بر نفوذپذیری بخار آب فیلم‌ها

کاهش مشاهده شده در میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم‌های نانوکامپوزیتی به‌نظر می‌رسد به دلیل حضور نانوذرات در شبکه پلیمر که به‌طور یکنواخت پراکنده شده‌اند (پیش‌تر با آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی ثابت شد)، باعث ایجاد یک مسیر پر پیچ و خم برای عبور مولکول‌های آب می‌شوند، است (Abdollahi *et al.*, 2012).

همانطور که شکل7 نشان می‌دهد، کمترین میزان نفوذپذیری به بخار آب در نانوکامپوزیت نقره مشاهده شد و میزان نفوذپذیری در نانوکامپوزیت ترکیبی بسیار نزدیک به نانوکامپوزیت نقره بود. این امر می‌تواند به ماهیت کریستالی و همچنین آبگریزی بیشتر نانوذرات نقره که پیش‌تر با آزمون پراش پرتو ایکس ثابت شد، نسبت داد.

نتیجه گیری

در این تحقیق به منظور بررسی فیلم‌های نانوکامپوزیت حاوی پلی‌وینیل الکل و نانوذرات نقره و اکسید روی، اقدام به ساخت فیلم‌ها به روش همزدن حلالی، شد. آزمون‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری، پراش پرتو ایکس و طیف‌سنج مادون قرمز نشان دادند که نانوذرات به‌طور یکنواخت پخش شده با زنجیره‌های پلیمری واکنش دادند. علاوه بر این مشاهده شد با افزودن نانوذرات نقره و اکسید روی به بستر پلی وینیل الکل مقاومت کششی فیلم افزایش و درصد ازدیاد طول، شفافیت و میزان نفوذپذیری به بخار آب کاهش می‌یابد. همچنین نتایج بدست آمده از آزمایشات مختلف مربوط به فیلم‌ها، نشان می‌دهد استفاده ترکیبی از نانوذرات نقره و اکسید روی در فیلم بسته‌بندی، می‌تواند تاثیر قابل توجهی بر خواص مکانیکی و نفوذپذیری داشته باشد. با توجه به قیمت بالای نانوذرات نقره، می‌توان از نانوذرات اکسید روی با در نظر گرفتن خواص مکانیکی خوب، خاصیت آبگریزی، غیرسمی، قیمت پایین و ظاهری سفید به‌صورت ترکیبی استفاده کرد. استفاده ترکیبی از نانوذرات نقره و اکسید روی، علاوه بر بهره‌گیری از خواص گوناگون آنها به‌صورت همزمان می‌تواند موجب کاهش میزان مصرفی هر کدام از نانوذرات و همچنین تاثیرات متقابل احتمالی آن‌ها باشد.

منابع

احمدی، ز.، میردهقان، س.ح.، حکم‌آبادی، ح. و شمشیری، م.ح.، 1392، استفاده از بسته‌بندی‌های نانو و پوشش دهی خوراکی در بهبود عمر انبارداری و کیفیت عمر دانه‌های پسته تازه. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، 4: 367 تا 374.

فرهودی، م.، موسوی، س. م.، ستوده قره باغ، ر.، امام جمعه، ز.، ارومیه‌ای، ع.، 1395، تاثیر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر روی ویژگی‌های مکانیکی و خواص انتقالی بسته بندیهای پلی اتیلن ترفتالات (PET) ، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، 13 (60).

قدسی، م.، شاهدی، م. و کدیور، م. 1392. بررسی برخی خصوصیات فیزیکی و ممانعتی بیونانو کامپوزیت پروتئین گاودانه حاوی نانوذرات نقره. دومین همایش تخصصی پلیمرهای پیشرفته در بسته بندی مواد غذایی، تهران.

قنبرزاده، ب.، الماسی، ه. و زاهدی، ی.، 1388، بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر و خوراکی در بسته بندی مواد غذایی و دارویی، انتشارات دانشگاه امیر کبیر.

گودرزی، ه.، 1386، نانو فناوری. رانتر، م. و رانتر، و. موسسه انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف.

Abdelghany, A.M., Abdelrazek, E.M., Badr, S.I., & Morsi, M.A., 2016, Effect of gamma-irradiation on (PEO/PVP)/Au nanocomposite: Materials for electrochemical & optical applications. *Materials & Design*, 97: 532-543.

Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Behrooz, R., Rezaei, M., & Miraki, R., 2013, Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles. *International journal of biological macromolecules*, 54: 166-173.

Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G., 2012, A novel active bionanocomposite filmincorporating rosemary essential oil & nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering*, 111 (2): 343-350.

Ahmed, J., Arfat, Y.A., Castro-Aguirre, E. & Auras, R., 2016, Mechanical, structural & thermal properties of Ag–Cu & ZnO reinforced polylactide nanocomposite films. *International journal of biological macromolecules*, 86: 885-892.

Arora, A., & Padua, G., 2009, Review: Nanocomposites in Food Packaging. *Journal of Food Science*, 75(1): 43-49.

ASTM, 1995, Standard test methods for water vapor transmission of material, E 96-95. Annual book of ASTM, American Society for Testing and Material. *Philadelphia*, PA.

ASTM, 2002, Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: *American Society for Testing and Material*.

Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M. & Soleimanian-Zad, S., 2011, Effect of nanocomposite packaging containing Ag & ZnO on inactivation of Lactobacillus plantarum in orange juice, *Food Control*, 22(3-4): 408-413.

Fernandes, D.M., Hechenleitner, A.W., Lima, S.M., Andrade, L.H.C.,Caires, A.R.L. & Pineda, E.G., 2011, Preparation, characterization, & photoluminescence study of PVA/ZnO nanocomposite films. *Materials Chemistry & Physics*, 128(3):371-376.

Gharoy Ahangar, E., Abbaspour-Fard, M.H., Shahtahmassebi, N., Khojastehpour, M. & Maddahi, P., 2015, Preparation & characterization of PVA/ZnO nanocomposite. *Journal of Food Processing & Preservation*, 39(6), 1442-1451.

Halder, S., Prasad, T., Khan, N.I., Goyat, M.S. & Chauhan, S.R., 2017, Superior mechanical properties of poly vinyl alcohol-assisted ZnO nanoparticle reinforced epoxy composites. *Materials Chemistry & Physics*, 192:198-209.

Hamza, A.M., Alhtheal, E.D. & Shakir, A.K., 2017, Enhancement the Efficiency of ZnOnanofiber mats antibacterial Using Novel PVA/Ag nanoparticles. *Energy Procedia*, 119:615-621.

Hosseinzadeh Beiragh, H., Omidkhah, M. R., Abedini, R., Khosravi, T., & Pakseresht, S., 2016, Synthesis and characterization of poly (ether-block- amide) mixed matrix membranes incorporated by nanoporous ZSM-5 particles for CO2/CH4 separation, *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 11: 522-532.

Mastromatteo, M., Conte, A., Lucera, A., Saccotelli, M. A., Buonocore, G. G., Zambrini, A. V., & Nobile, M. A., 2015, Packaging solutions to prolong the shelf life of Fiordilatte cheese: Bio-based nanocomposite coating & modified atmosphere packaging. *Food Science & Technology*, 60: 230-237.

Mendes, E., Piletti, R., Barichello, T., Oliveira, C. M., Kniess, C. T., & Angioletto, E., 2012, The influence of particle size & AgNO3 concentration in the ionic exchange process on the fungicidal action of antimicrobial glass. *Materials Science & Engineering*, 32(6): 1518–1523**.**

Muñoz-Fernandez, L., Sierra-Fern&ez, A., Flores-Carrasco, G., Milošević, O. & Rabanal, M.E., 2017, Solvothermal synthesis of Ag/ZnO micro/nanostructures with different precursors for advanced photocatalytic applications. *Advanced Powder Technology*, 28(1):83-92.

Oun, A.A. & Rhim, J.W., 2017, Carrageenan-based hydrogels & films: Effect of ZnO & CuO nanoparticles on the physical, mechanical, & antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, 67: 45-53.

Panea, B., Ripoll, G., González, J., Fernández-Cuello, Á. & Albertí, P., 2014, Effect of nanocomposite packaging containing different proportions of ZnO & Ag on chicken breast meat quality. *Journal of Food Engineering*, 123:104-112.

Robertson, G.L., 2016, Food packaging: principles & practice, CRC press.

Roco, M.C., Mirkin, C.A., & Hersam, M.C., 2011, Nanotechnology Research Directions for societal needs in 2020. *Summary of international study*, 897-919.

Shahabi-Ghahfarrokhi, I., Khodaiyan, F., Mousavi, M. & Yousefi, H., 2015, Preparation of UV-protective kefiran/nano-ZnO nanocomposites: Physical & mechanical properties. *International journal of biological macromolecules*, 72: 41-46.

Sorrentino, A., Gorrasi, G., & Vittoria, V., 2007, Potential perspectives of bionanocomposites for food packaging applications. *Food science & Technology*, 18: 84-95.

Tankhiwale, R., Bajpai, S.K., 2012, Preparation, characterization & antibacterial applications of ZnO-nanoparticles coated polyethylene films for food packaging. *Colloids & Surfaces Biointerfaces*, 90: 16–20.

Yamamoto, O., J. Sawai, M. Hotta, H. Kijima & T. Sasamoto .,1998, Growth inhibition of bacteria by MgO-ZnO solid-solution powders: influence of doping amount of ZnO. *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 106: 1252- 1254.

Zapata, P.A., Tamayo, L., Páez, M., Cerda, E., Azócar, I. & Rabagliatil, F.B., 2011, Nanocomposites based on polyethylene & nanosilver particlesproduced by metallocenic ‘‘in situ’’ polymerization: synthesis,characterization, & antimicrobial behavior. *European Polymer Journal*, 47(8): 1541–1549.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 407-417

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 417-407

The effect of incorporating of ZnO/ Ag nanoparticles on functional properties of poly vinyl alcohol packaging films

Z. Karimi Valoujaei[1], M. H. Abbaspour- Fard[2*], M. H. Aghkhani[2], S. Tarighi[3]

Received: 2018.05.16
Accepted: 2018.12.30

Introduction: Packaging is one of the effective ways to increase the storage life and quality of the food products. Nowadays, most of the materials used in packaging are fossil origin and usually non-degradable and hardly dissoluble. Also biodegradable films, due to their fragility and poor resistant to gas exchange are in limited use. It is possible that by employing nanotechnology, some particles on nano scale may be added to these polymer composites to improve the mechanical properties and permeability of the biodegradable packing films. Silver nanoparticles and zinc oxide have been incorporated in polymers individually by researchers. The objective of this study is to compare the effect of incorporating the mixture of silver and zinc oxide nanoparticles with the case of adding them separately into poly vinyl alcohol matrix, on some relevant mechanical and physical properties of the outcome Nono-composite films.

Materials and methods: To make polymer films polyvinyl alcohol, solvent (deionized water) and glycerol (as softener) were used. Then, zinc oxide and silver nanoparticles at 3% by weight, were added to the polymer solution in two different ways, separately and in combination. To specify the pattern of nano-particles size distribution, transmission electron microscope (TEM) test was performed. To determine the characteristics of the films' surface scanning electron microscope (SEM) was employed. To investigate the bondings between the components of nono-composite films, FTIR was employed.For identification of matrix structure and formation of nano-composite, the XRD was performed. To measure the infiltration of water vapor, the approved E96 ASTM method was used. Also, for measuring the color and transparency of films, the HunterLab test and for mechanical properties of the films, Instron Universal Testing Machine (H5 KS, England) were used (considering the ASTM standard for tensile tests - D88201). For statistical analysis and comparison of means, variance analysis and Dunkan test were performed, using SPSS software.

Results & discussion: SEM, XRD and FTIR tests showed that nanoparticles were distributed uniformly within the polymer matrix, and react well with the polymer chains. Besides, the effect of adding silver and zinc oxide nanoparticles on the relevant properties of the films was significant. By individual adding of these nanoparticles on polyvinyl alcohol matrix, the tensile strength and the elongation of films increased. On the other hand, their transparency and water vapor permeability decreased. The results also showed that the combined incorporation of silver and zinc oxide nanoparticles into the packing films can significantly affect their mechanical properties and permeability. Hence, due to the high prices of silver nanoparticles than zinc oxide nanoparticle, the combined incorporation of these two nano-particles is recommended, while maintaining the properties of the nano-composite films in a reasonable level. It can be implied that the combined use of silver and zinc oxide nanoparticles in the polymer provides a more affordable Nano-film with good enough quality. It may also reduce their mutual side effects.

Keywords: Poly vinyl alcohol, Zinc oxide nanoparticles, Silver nanoparticles, Nano-composites

1 and 2. Graduated M.Sc and Professor, Department of Biosystems Engineering, Ferdowsi University of Mashhad
3. Associate Professor, Department of Plant protection, Ferdowsi University of Mashhad
(*- Corresponding Author Email: abaspour@um.ac.ir)

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 419-431

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 431-419

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خامه‌زده شده حاوی پودر شیرین بیان

زهرا حسین‌پور[1]- حجت کاراژیان[2]*

تاریخ دریافت: 1397/06/18
تاریخ پذیرش: 1397/12/13

چکیده

خامه قنادی از پرمصرف‌ترین فرآورده‌های لبنی در صنایع غذایی است که در شیرینی‌های خامه‌ای، دسرها و کیک‌ها استفاده می‌شود و در اثر هوادهی و زدن خامه معمولی ایجاد می‌شود. این محصول به سبب عطر و طعم خاص آن دارای مطلوبیت بالایی است. یک خامه قنادی با کیفیت مناسب باید یک کف خوب با حجم بالا ایجاد کند. شیرین بیان یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی و از خانواده نخود است. ساپونین تام حاصل از شیرین بیان دارای قدرت خوبی جهت ایجاد کف پایدار می‌باشد و از نظر قدرت کاهش کشش سطحی و امولسیون‌کنندگی نیز دارای قدرت متوسطی می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی تأثیرافزودن پودر شیرین بیان برروی خواص فیزیکی و شیمیایی خامه‌زده شده می‌باشد. نمونه‌ها با افزودن پودر شیرین بیان در سطوح مختلف (صفر، 2، 4، 6 و 8 درصد) تهیه شدند. پارامترهای مورد اندازه‌گیری زمان‌زدن، افزایش حجم، آب‌اندازی، اسیدیته و pH، خصوصیات رئولوژیکی و همچنین آزمون‌های بافت‌سنجی بودند. نتایج نشان داد با افزودن شیرین بیان در فرمولاسیون خامه زده شده پارامترهای زمان زدن، اسیدیته، افزایش حجم و آب‌اندازی افزایش یافت و مقادیر pH محصول کاهش پیدا کرد. بررسی خصوصیات رئولوژیکی نشان داد که تمامی نمونه‌ها رفتار غیرنیوتونی مشخصاً شل‌شونده با برش از خود نشان دادند، به‌طوریکه با افزایش درصد شیرین بیان انحراف از رفتار نیوتونی بیشتر بود. نتایج آزمون‌های بافت‌سنجی افزایش سختی، چسبندگی و نیروی چسبندگی محصول را به دنبال داشت. با توجه به افزایش میزان حجم و بهبود بافت محصول نسبت به شاهد تا سطح غلظت 4 درصد، لذا این سطح جهت فرمولاسیون خامه قنادی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: شیرین بیان، خامه زده شده، افزایش حجم، خصوصیات بافتی، ویسکوزیته.

مقدمه

خامه‌زده شده امروزه به‌عنوان یک محصول که جزء مواد قنادی به‌شمار می‌رود، توسط کارخانجات لبنی تولید می‌شود. این محصول یکی از انواع خامه است که به‌وسیله عمل زدن و وارد کردن هوا در آن حجیم شده و در فرآورده‌های قنادی مورد استفاده قرارمی‌گیرد (عزیزی و همکاران، 1393). خامه در اثر عمل هوادهی به یک سیستم کف تبدیل می‌شود که فاز پراکنده آن حباب‌های هوا و فاز پیوسته آن سرم مایع می‌باشد (قدس روحانی، 1385، Smith *et al.*, 2000). در حین زدن خامه، حجم زیادی از هوا (60-40 درصد حجمی) به‌صورت حباب‌های بزرگ درون امولسیون اولیه گلبول‌های چربی شیر قرار می‌گیرد (Noda & Shiinoki, 1986). بعد از زدن خامه، اندازه حباب هوا کوچک‌تر شده و در حالی‌که گلبول‌های چربی اطراف حباب‌های هوا متراکم می‌شوند، یک لایه پوششی متراکم شکل می‌گیرد، در این حالت یک فاز آبی پیوسته که گلبول‌های چربی و هوا در آن گسترده‌اند، قابل مشاهده است (Anderson & Brooker, 1988, Noda & Shiinoki, 1986). یک خامه قنادی با کیفیت مناسب باید به‌راحتی زده شود و یک کف خوب با حجم[3] بالا ایجاد کند (Prentice, 1992).

شیرین بیان[4] یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی و از خانواده نخود است که از مواد موثره این گیاه در صنایع داروسازی، نوشابه‌سازی، شیرینی‌سازی و دخانیات استفاده می‌شود (Simon *et al.*, 1984). ریشه گیاه شیرین بیان منبعی سرشار از ساپونین است که دارای خواص فیزیکی وشیمیایی متعدد و نیز اثر بر کلسترول می‌باشد. از ساپونین تام حاصل از ریشه شیرین بیان می‌توان جهت مصارف صنعتی و بخصوص صنایع دارویی، غذایی و آرایشی-بهداشتی با اطمینان نسبی بهره جست (مقیمی‌پور و همکاران، 1386). تشکیل کف پایدار یکی از شاخص‌ترین خواص ساپونین‌هاست تا آنجا که از آن به عنوان آزمونی جهت تشخیص حضور ساپونین بهره می‌گیرند. مکانیسم تشکیل کف روشن نیست ولی می‌توان گفت که ویژگی آبدوستی- چربی دوستی (دوگانه دوستی) ساپونین‌ها مسئول آن است

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تربت حیدریه، ایران
2- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تربت حیدریه، دانشگاه آزاد اسلامی، تربت حیدریه، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: Hojjat_Karazhiyan@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.75272

3 Overrun
4 Glycyrrhiza glabra

(Hostettman & Marston, 1996). علاوه بر این شیرین بیان یک شیرین‌کننده طبیعی قدرتمند است که به‌طور گسترده‌ای در سراسر جهان در مواد غذایی، صنعت شیرینی‌سازی، محصولات دارویی از قبیل شربت سرفه، مکمل‌های گیاهی، آدامس، نوشابه و آب نبات استفاده می‌شود (Mukhopadhyay & Panja, 2008).

کاراژیان و همکاران (1395) خصوصیات رئولوژیکی عصاره شیرین بیان را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج، رابطه خطی تنش برشی- سرعت برشی را در غلظت‌های مختلف و دماهای مورد مطالعه نشان داد که بیانگر نیوتنی بودن سیال بود. Ibanoglu و Ibanoglu (2000) رفتار کف‌زایی عصاره شیرین بیان را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که غلظت بر روی افزایش حجم و پایداری کف اثر مهمی دارد. افزایش حجم با غلظت و زمان ضربه‌زدن افزایش پیدا می‌کند و همچنین پایداری کف با افزایش در غلظت گسترش پیدا می‌کند.

نقی‌زاده رئیسی و همکاران (1387) به بررسی تأثیر پایدار نندهها و مقدار چربی بر ویژگی‌های همزنی و فیزیکی خامه قنادی پرداختند و تأثیر مقادیر مختلف لستین، کاراگینان و WP900 بر استحکام، افزایش حجم، آب پس‌دهی و ویسکوزیته خامه قنادی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش مقدار لستین و کاراگینان، استحکام خامه قنادی افزایش معنی‌داری نشان داد و از طرفی لستین وWP900 افزایش حجم مناسبی در نمونه‌ها ایجاد کردند.

عزیزی و همکاران (1393) تاثیر ایزوله پروتئین سویا و صمغ ثعلب را بر خواص فیزیکی و شیمیایی وحسی خامه‌زده کم‌چرب مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که با افزایش متغیرهای مستقل اسیدیته، ویسکوزیته و میزان افزایش حجم افزایش یافته و درصد چربی و آب‌اندازی در دمای محیط و یخچال در سطح معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت.

فرجی و همکاران (1393) تاثیر صمغ دانه قدومه شهری را بر روی پایداری خامه قنادی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که با افزایش درصد صمغ دانه قدومه، مقدار افزایش حجم افزایش و مقدار آب‌اندازی کاهش یافت ولی در مقادیر گرانروی و درصد افت ارتفاع تفاوت معنی داری در سطح اطمینان 95 درصد مشاهده نشد.

کاتوزیان و همکاران (1393) تاثیر مالتودکسترین را بر ویسکوزیته و رفتار جریانی خامه قنادی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که با افزودن مالتودکسترین، نمونه‌ها هیچگونه آب‌اندازی از خود نشان نمی‌دهند اما افزایش حجم با افزایش مقدار مالتودکسترین کاهش می‌یابد و ویسکوزیته و قوام محصول هم با افزایش مقدار مالتودکسترین افزوده شده افزایش می‌یابد.

مصرف‌کنندگان و صنعت لبنیات انتظارات خاصی از کیفیت خامه‌های زده شده در ارتباط با طعم، مدت زمان ماندگاری و خصوصیات زده شدن دارند. خصوصیات زده شدن در صنعت با سرعت زده شدن، افزایش میزان حجم و میزان ثبات و استحکام محصول زده شده مورد ارزیابی قرار می گیرد. عوامل فعال‌کننده سطح و استابیلایزرها که اغلب به خامه قنادی افزوده می شوند باعث ایجاد کف بهتری می شوند و اورران و پایداری کف را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Bruhn & Bruhn, 1988). به‌طور کلی هدف از این پژوهش بهبود شرایط تولید خامه زده شده از نظر پارامتر افزایش حجم و بررسی خصوصیات فیزیکی، شیمیایی، رئولوژیکی و بافتی خامه‌زده شده حاوی درصدهای مختلف شیرین بیان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

خامه خروجی از سپراتور با چربی حدود 70 درصد و شیر پاستوریزه کم‌چرب با 1/5 درصد چربی، pH بین 6/8-6/6 که از نظر بار میکروبی، کلی‌فرم کمتر از 10 cfu/g، E.Coli منفی و شمارش کلی میکروارگانیسم کمتر از $7/5\times10^4$ بود از شرکت لبنی گناباد پاک خریداری شد. کنسانتره پروتئینی شیر با پروتئین 70 درصد از شرکت پگاه فارس و وانیل از شرکت اطمینان هدف توس تهیه گردید. شکر و پودر شیرین بیان از عطاری موجود در بازار خریداری شد و پودر شیرین بیان با الک ریز الک شد.

تهیه خامه زده شده

برای تهیه خامه زده شده ابتدا درصد چربی خامه خروجی از سپراتور با استفاده از شیر پاستوریزه کم‌چرب تا 30 درصد استاندارد شد. تمامی نمونه‌های خامه زده شده طبق روش اشاره شده توسط عزیزی و همکاران (1393) تهیه شدند، به‌طوریکه نسبت‌ها عبارت بود از: 20 درصد شکر، 0/2 درصد کنسانتره پروتئینی شیر، 0/01 درصد وانیل و سطوح مختلف (2، 4، 6 و 8 درصد) پودر شیرین بیان که با توجه به مجاز بودن استفاده از امولسیفایر در فرمولاسیون خامه زده شده مطابق استاندارد ملی ایران به شماره191، بر اساس روش آزمون و خطا حد ماکزیمم و مینیمم شیرین بیان به‌عنوان یک امولسیفایر طبیعی تعیین شد و سپس محدوده به‌دست آمده به چهار سطح مساوی تقسیم شد که با روش انتخاب شده در پژوهشی که توسط پورثانی و همکاران (1395) بر روی بستنی بدون چربی انجام شد مطابقت دارد. بعد از وزن کردن هریک از مواد با ترازوی دیجیتال (FWE، ژاپن، با دقت 0/01)، ابتدا شیر روی هات پلیت گرم شده و سپس مواد خشک پس از مخلوط کردن به شیر اضافه‌شده و هم‌زده می‌شود تا مواد کاملا حل شده و از کلوخه شدن جلوگیری شود. سپس خامه به شیر اضافه‌شده و کاملا خامه در شیر حل می‌شود. به‌منظور پاستوریزه‌کردن نمونه‌ها، مواد در بن‌ماری (بهداد، ایران) با دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه نگاه داشته می‌شود (Pak, 1995). بعد از 10 دقیقه نمونه جهت سرد شدن در آب سرد قرار داده شد. پس

از سرد کردن نمونه، نمونه‌های تولیدی داخل ظروف پلاستیکی ریخته و به مدت 24 ساعت داخل فریزر قرار داده شد تا تبلور چربی بالا برود و تشکیل ساختار کف در طی زدن تقویت شود. بعد از خنک کردن، خامه برای هوادهی آماده می‌شود (عزیزی و همکاران، 1393). در این پژوهش مشابه پژوهش‌های انجام شده توسط کاتوزیان و همکاران (1393) تأثیر مالتودکسترین بر ویسکوزیته و رفتار جریانی خامه قنادی، فرجی و همکاران (1393) بررسی تاثیر صمغ دانه قدومه شهری بر روی پایداری خامه قنادی و احمدی و همکاران (1391) بررسی امکان کاربرد صمغ فارسی به‌عنوان پایدارکننده در بستنی، شیرین بیان بدون جایگزینی با ترکیبی به فرمولاسیون خامه زده شده اضافه شد.

آزمون‌های فیزیکی وشیمیایی خامه زده شده

به‌منظور تعیین زمان زدن، مقداری از خامه در یک مخلوط‌کن مجهز با یک سیم زدن استاندارد در سرعت متوسط زده‌شد. مخلوط کردن وقتی که حداکثر افزایش حجم مبنی بر بازرسی بصری حاصل شد متوقف شد و زمان زدن ثبت شد (Van Lent *et al*., 2008).

افزایش حجم نمونه‌ها به وسیله سنجش یک حجم معین از خامه زده نشده با حجم یکسان از خامه زده شده طبق روش امام‌جمعه و همکاران (2008) اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه گیری مقدار آب‌اندازی، مقدار آب خارج شده از نمونه‌ها در دمای 24- 26 درجه سانتی‌گراد وزن شد (امیری جم، 1393).

میزان اسیدیته و pH نمونه‌ها مطابق با روش مشخص‌شده در استاندارد ملی ایران به شماره 2852 اندازه‌گیری شد.

خصوصیات رئولوژیکی نمونه‌ها با استفاده از رئومتر (C-LTD80، اتریش) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد و سرعت برشی 100-صفر (یک بر ثانیه) بررسی شد (Sajedi *et al*., 2014).

اثرات پودر شیرین بیان بر مشخصات بافتی نمونه‌های خامه زده شده با استفاده از روش اکستروژن برگشتی بررسی شد. سفتی و چسبندگی نمونه‌ها با استفاده از آنالیزر بافت بروکفیلد با استفاده از پروب سیلندر آلومینیومی با قطر 38 میلی‌متر اندازه‌گیری شد. سرعت نفوذ پروب 1 میلی‌متر در هر ثانیه و عمق نفوذ 30 میلی‌متر بود (Nguyen *et al*., 2015).

پارامترهای بافتی اندازه گیری شده شامل سختی، چسبندگی و نیروی چسبندگی می باشند (Zhao *et al*., 2009).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای آنالیز نتایج، از طرح آماری پایه کاملا تصادفی یک فاکتوری استفاده شد و برای مقایسه میانگین از آزمون دانکن در سطح آماری 5 درصد بهره برده شد.

نتایج و بحث

تأثیرافزودن شیرین بیان بر میزان زمان زدن

زمان زدن نمونه‌ها با افزودن درصدهای مختلف شیرین بیان اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد بین تیمار کنترل و تیمار 2 و 4 درصد اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد ($p> 0/05$) اما بین تیمار کنترل و تیمار 6 و 8 درصد اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$) جدول (1).

جدول 1- تأثیر افزودن شیرین بیان بر میزان زمان زدن نمونه‌های خامه زده شده

درصد شیرین بیان	زمان زدن
تیمار کنترل	$6/057\pm 1/00^{C}$
%2	$6/537\pm 0/70^{C}$
%4	$8/557\pm 0/54^{BC}$
%6	$10/363\pm 1/95^{AB}$
%8	$12/160\pm 3/41^{A}$

کمترین میزان زمان زدن از نظر کمی مربوط به تیمار کنترل و بیشترین میزان زمان زدن مربوط به تیمار 8 درصد شیرین بیان بود. همانگونه که مشاهده می‌گردد با افزایش درصد شیرین بیان در فرمولاسیون خامه زده شده، زمان زدن خامه روند افزایشی داشت. افزایش زمان زدن را می‌توان اینگونه توجیه کرد که افزودنی‌های پایدارکننده باعث تأخیر سینتیکی کف‌زایی خامه می‌شوند که می‌تواند نه تنها به علت افزایش ویسکوزیته فاز مایع بلکه همچنین به علت برهمکنش پروتئین- پایدار کننده که می‌تواند اندکی مانع از خواص کف‌کردن پروتئین شیر شود، باشد (Camacho *et al*., 1998).

امام‌جمعه و همکاران (2008) تاثیر افزایش کنسانتره پروتئین آب پنیر را بر روی خواص فیزیکی خامه شیرین هموژنیزه بررسی نمودند و بیان کردند که مقدار کازئین در دسترس و پروتئین آب پنیر موجود در فاز سرم برای تثبیت حباب‌های هوا در مراحل ابتدائی‌زدن کاهش یافته و احتمالا پیوستن گلبول های چربی به سطح حباب ها به‌عنوان یک پیش ماده ضروری احتمالی به تعویق افتاده که منجربه زمان زدن طولانی‌تر نسبت به خامه هموژنیزه نشده می‌شود.

تأثیرافزودن شیرین بیان بر میزان افزایش حجم

نتایج نشان داد بین تیمار کنترل و سایر تیمارهای حاوی شیرین بیان در تمامی سطوح اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد ($p>0/05$) جدول (2). طبق نتایج به‌دست آمده با افزایش میزان شیرین بیان در خامه زده شده تا سطح 4 درصد افزایش حجم تیمارها روند افزایشی داشت اما با ادامه افزایش درصد شیرین بیان، افزایش حجم خامه زده شده کاهش یافت. بیشترین میزان افزایش حجم از

نظر کمی مربوط به تیمار 4 درصد و کمترین میزان افزایش حجم مربوط به تیمار 8 درصد شیرین بیان بود. میزان افزایش حجم تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله نوع اجزای مخلوط نظیر میزان چربی، مواد جامد، شیرین‌کننده‌ها و حضور مواد پایدارکننده می‌باشد (Akın *et al*., 2007; Milani, 1993). ریشه شیرین بیان منبعی سرشار از ساپونین‌ها است. تشکیل کف پایدار یکی از شاخص‌ترین خواص ساپونین‌ها است که می‌توان گفت ویژگی آبدوستی– چربی دوستی (دوگانه دوستی) ساپونین‌ها مسئول مکانیسم تشکیل کف است (Hostettman & Marston, 1996). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت افزایش میزان افزایش حجم تیمارها تا سطح 4 درصد احتمالا به خاطر خاصیت کف‌زایی ساپونین است. از طرفی در مطالعات انجام شده، گزارش شده است که با افزایش غلظت صمغ‌ها (صمغ موجود در شیرین بیان) افزایش حجم در سیستم کف کاهش می‌یابد (Pasban *et al*., 2014). در واقع با افزایش زیاد ویسکوزیته فاز آبی با افزودن صمغ‌ها، هوا در طی همزنی نمی‌تواند وارد سیستم شود و بنابراین افزایش حجم کمتری را در سیستم شاهد خواهیم بود (Pasban *et al*., 2014). بنابراین روند کاهشی میزان افزایش حجم در درصدهای 6 و 8 شیرین بیان احتمالا به علت افزایش ویسکوزیته خامه زده شده‌است که با نتایج حاصل از جدول 6 (ضریب قوام، k) همخوانی نشان می‌دهد. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات محققین دیگر مطابقت دارد. از جمله در مطالعه‌ای که کاتوزیان و همکاران (1393) بر روی تاثیر مالتودکسترین بر ویسکوزیته و رفتار جریانی خامه قنادی انجام دادند به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت مالتودکسترین تا درصد 6 و 9 مقدار افزایش حجم خامه قنادی کاهش می‌یابد. آنها اظهار کردند این نتایج با توجه به افزایش مقدار مالتودکسترین قابل توجیه می‌باشد که باعث افزایش سختی ساختار خامه قنادی و کاهش در میزان افزایش حجم می‌شود که این مشکل را می‌توان با افزایش استابیلایزر حل نمود و میزان افزایش حجم را افزایش داد. همچنین در تحقیق دیگری که توسط کاتوزیان و همکاران (1394) بر روی تأثیر افزودن مخلوط سوکرالوز و مالتودکسترین بر خواص رئولوژیکی، فیزیکی و شیمیایی و حسی خامه قنادی انجام شد، نتیجه مشابهی حاصل شد. Camacho و همکاران (1998) با بررسی اثر کاراگینان و صمغ لوبیای خرنوب برروی ویژگی خامه قنادی مشاهده کردند که در غلظت‌های بالاتر از 0/05 درصد کاراگینان و 0/1 درصد صمغ خرنوب ظرفیت هوادهی کاهش یافت، افزایش بیش از حد ویسکوزیته سرم باعث کاهش قابلیت هوادهی و فروپاشی ساختار و در نهایت کاهش مقدار افزایش حجم گردید. فرجی و همکاران (1393) با به‌کاربردن صمغ دانه قدومه شهری در خامه زده شده به این نتیجه رسیدند که با افزایش درصد صمغ قدومه در خامه در سطح 0/05 درصد مقدار افزایش حجم افزایش پیدا کرده اما با ادامه افزایش درصد صمغ، مقدار افزایش حجم، کاهش یافت و علت این پدیده را افزایش خوابیدگی و فشردگی و در نتیجه افزایش دانسیته خامه قنادی بیان کردند.

جدول 2- تأثیر افزودن شیرین بیان بر میزان افزایش حجم نمونه‌های خامه زده شده

درصد شیرین بیان	افزایش حجم
تیمار کنترل	60/000± 8/09 ABC
%2	66/483± 7/98AB
%4	71/253± 7/76 A
%6	56/310± 5/86 BC
%8	52/253± 4/03 C

Akın و همکاران (2007) در پژوهش خود، افزایش میزان افزایش حجم بستنی ماستی با افزایش غلظت شکر و اینولین (به‌عنوان ترکیب پایدارکننده و جایگزین چربی) را به دلیل انجام پیوند با مولکول‌های آب، تشکیل شبکه سه بعدی و به دام انداختن این مولکول‌ها داخل شبکه و عدم تحرک آن‌ها گزارش نمودند. احمدی و همکاران (1391) امکان کاربرد صمغ فارسی را به‌عنوان پایدارکننده در بستنی بررسی نمودند و مشاهده کردند که افزودن صمغ ابتدا موجب افزایش میزان افزایش حجم بستنی نسبت به نمونه شاهد شد اما با افزایش سطح صمغ، افزایش حجم روند کاهشی تقریبا منظمی را طی کرد و بیان نمودند در اثر افزایش زیاد ویسکوزیته در حین فرآیند همزدن و انجماد، هوا نمی‌تواند به‌طور مناسب وارد بافت شده و از توزیع مناسب هوا جلوگیری می‌شود (گوهری اردبیلی و همکاران، 1384). همچنین نتیجه پژوهش حاضر با نتایج جوینده و همکاران (1395) در بستنی نیم چرب و اردلان و همکاران (1395) در بستنی سنتی زعفرانی مطابقت دارد

تأثیرافزودن شیرین بیان بر میزان اسیدیته

نتایج نشان داد بین تیمار کنترل و سایر تیمارهای حاوی شیرین بیان اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد ($p<0/05$) (جدول 3). به‌طور کلی میزان اسیدیته تیمارها نسبت به تیمار کنترل افزایش

یافت. بیشترین میزان اسیدیته از نظر کمی مربوط به تیمار 8 درصد شیرین بیان و کمترین میزان اسیدیته مربوط به تیمار کنترل بود. درصد اسیدیته قابل تیتر خامه زده شده بر حسب اسیدلاکتیک طبق استاندارد ملی ایران به شماره 191، 0/15-0/09 می‌باشد که با افزایش میزان شیرین بیان در فرمولاسیون خامه زده شده، میزان اسیدیته در تیمارهای 6 و 8 درصد شیرین بیان بیشتر از حد استاندارد افزایش یافت. افزایش اسیدیته خامه زده شده با افزایش درصد شیرین بیان، احتمالا به دلیل خاصیت اسیدی‌بودن ساپونین‌های موجود در شیرین بیان می‌باشد (Hostettman & Marston, 1996).

در تحقیقی که غلامحسین‌پور و مظاهری تهرانی (1390) ازکنسانتره پروتئینی شیر برای تولید خامه کم‌چرب استفاده کردند نتیجه مشابهی حاصل شد بدین معنی که با افزایش میزان کنسانتره پروتئینی شیر، اسیدیته نمونه‌ها افزایش یافت که دلیل آن بالاتربودن اسیدیته کنسانتره نسبت به خامه می‌باشد.

جدول3- تأثیر افزودن شیرین بیان بر میزان اسیدیته نمونه‌های خامه زده شده

درصد شیرین بیان	اسیدیته
تیمار کنترل	0/088± 0/01 D
%2	0/132 ± 0/01 C
%4	0/149± 0/01 BC
%6	0/161± 0/01 AB
%8	0/175 ± 0/01 A

تأثیرافزودن شیرین بیان بر میزان pH

میزان pH نمونه‌ها با افزودن درصدهای مختلف شیرین بیان اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد بین تیمار کنترل و سایر تیمارهای حاوی شیرین بیان در تمامی سطوح اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد ($p<0/05$) و میزان pH تیمارها نسبت به تیمار کنترل کاهش یافت. کمترین میزان pH مربوط به تیمار 8 درصد شیرین بیان و بیشترین میزان pH مربوط به تیمار کنترل بود (جدول 4). به موازات افزایش شیرین بیان در فرمولاسیون و افزایش اسیدیته، pH به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. طبق نظر Hostettman و Marston (1996) ساپونین‌های موجود در عصاره چوبک به دلیل وجود گروه‌های کربوکسیل در بخش قندی یا بخش آگلایکون تا حدی خاصیت اسیدی ایجاد می‌کنند، نظر به تشابه زیاد ساختار ساپونین‌های عصاره شیرین بیان و عصاره چوبک، کاهش pH در اثر افزایش شیرین بیان احتمالا به دلیل خاصیت اسیدی ساپونین‌های موجود در آن می‌باشد. با وجود کاهش pH، در تمامی تیمارها pH در محدوده مجاز تعیین شده (6/8-6/5) توسط استاندارد ملی ایران به شماره 191 می‌باشد.

جدول4- تأثیر افزودن شیرین بیان بر میزان pH نمونه‌های خامه زده شده

درصد شیرین بیان	pH
تیمارکنترل	6/780± 0/01A
%2	6/697± 0/01 B
%4	6/613± 0/02 C
%6	6/573 ± 0/02 D
%8	6/503 ±0/03 E

نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات محققین دیگر مطابقت دارد. از جمله کیهانی و همکاران (1394) تاثیر عصاره چوبک[1]وامولسیفایر منو و دی گلیسرید[2] را بر ویژگی‌های کیفی کیک روغنی مقایسه و بررسی نمودند. مشاهده گردید افزوده شدن عصاره چوبک و امولسیفایر منو و دی گلیسرید به تنهایی منجر به کاهش pH خمیر شد که در مورد هر دو افزودنی این کاهش معنی دار نبود ($p<0/05$). کاربرد همزمان آنها این روند کاهشی را تشدید نمود. نقش بیشتر عصاره چوبک در کاهش pH را می‌توان به حضورگسترده ساپونین‌های نوع تری‌ترپنوئید در این عصاره گیاهی نسبت داد که در برخی منابع از آن‌ها با عنوان ساپونین‌های اسیدی نیز یاد شده است (Hostettman & Marston, 1996). همچنین نتایج کاراژیان و کیهانی (1393)که تأثیر

1 *Acanthophyllum glandulosum*
2 E471

عصاره چوبک را به نوان جایگزین سفیده تخم‌مرغ بر کیفیت کیک اسفنجی بررسی نمودند با نتایج این بخش همخوانی دارد.

تأثیرافزودن شیرین بیان برمیزان آب‌اندازی

نتایج نشان داد بین تیمار کنترل و تیمار 6 درصداختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد ($p<0/05$) اما بین تیمار کنترل با سایر تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$) (جدول 5). بیشترین میزان آب‌اندازی از نظر کمی مربوط به تیمار 6 درصد و کمترین میزان آب‌اندازی مربوط به تیمار 2 درصد شیرین بیان بود. آب‌اندازی در خامه قنادی شکست امولسیون را نشان می‌دهد و ارتباط تنگاتنگی با ویسکوزیته فرآورده دارد (Dickinson & Stainsby, 1987)، در نتیجه انتظار می‌رود ویسکوزیته بالاتر از خامه زده شده منجر به آب‌اندازی کمتر در محصول نهایی شود. با توجه به نتایج، میزان آب‌اندازی خامه در سطح 2 درصد نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت که احتمالا بدلیل افزایش ویسکوزیته خامه زده شده است. با افزایش درصد شیرین بیان آب‌اندازی نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت که می‌توان علت افزایش آب اندازی در سطح 4 و 6 درصد را به دلیل افزایش خوابیدگی و تراکم بافت خامه قنادی دانست (فرجی و همکاران ،1393). همچنانکه اشاره شد ریشه شیرین بیان حاوی صمغ است (Baran & Fenercioglu , 1991) و صمغ با جذب آب و درگیرکردن آن در شبکه ژلی تشکیل شده، باعث افزایش ویسکوزیته محصول نهایی و در نتیجه کاهش آب‌اندازی خامه می‌شود (عزیزی و همکاران، 1393). در نتیجه احتمالا با ادامه افزایش مقدار شیرین بیان در خامه، خاصیت نگهداری آب صمغ باعث کاهش دوباره مقدار آب‌اندازی خامه شده است. نتایج پژوهش حاضر با نتایج فرجی و همکاران (1393) که تاثیر صمغ دانه قدومه شهری را بر روی پایداری خامه قنادی مورد بررسی قرار دادند مطابقت دارد. در این پژوهش مشاهده شد که در اثر افزایش مقدار صمغ، آب‌اندازی خامه قنادی به شدت کاهش یافت و در سطح 0/05 درصد به صفر رسید. در سطح 0/1 درصد مقدار آب‌اندازی افزایش یافت اما با بیشتر شدن مقدار صمغ موجود در بافت خامه، خاصیت نگهداری آب خود صمغ باعث کاهش دوباره مقدار آب‌اندازی شد. اما با نتایج عزیزی و همکاران (1393) که تاثیر ایزوله پروتئین سویا (SPI) و صمغ ثعلب را بر خواص فیزیکی و شیمیایی و حسی خامه‌زده کم‌چرب مورد بررسی قرار دادند و امام‌جمعه و همکاران (2008) که اثر افزودن کنسانتره پروتئین آب پنیر را بر خواص فیزیکی خامه لبنی شیرین هموژنیزه شده مورد مطالعه قرار دادند، همخوانی ندارد.

جدول 5- تأثیر افزودن شیرین بیان بر میزان آب‌اندازی نمونه‌های خامه زده شده

درصد شیرین بیان	آب‌اندازی
تیمار کنترل	13/700± 2/54 B
%2	11/960 ±2/52 B
%4	14/067± 0/15 B
%6	17/853 ± 2/01 A
%8	15/017 ± 1/12AB

تأثیرافزودن شیرین بیان بر خصوصیات رئولوژیکی

خصوصیات رئولوژیک نمونه‌های خامه زده شده حاوی پودر شیرین بیان مورد بررسی قرار گرفت که در این پژوهش مدل قانون توان برای تشریح رفتارهای رئولوژیک انتخاب شد:

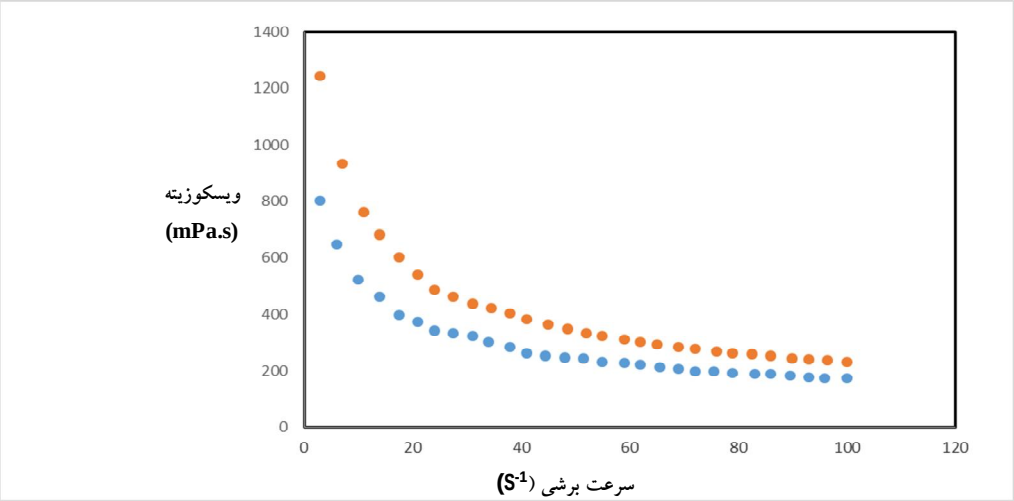
$$\mu = k\gamma^{n-1} \quad (1)$$

که در این رابطه μ ویسکوزیته (بر حسب Pa.s)، γ سرعت برشی (بر حسب S^{-1})، k ضریب قوام (بر حسب $Pa.s^n$) و n شاخص رفتار جریان (بدون بعد) می‌باشد. مقادیر ضریب قوام، شاخص رفتار جریان و ضریب همبستگی (R^2) برای مدل برازش شده در مورد هر کدام از نمونه‌ها در جدول (6) آورده شده است همچنین منحنی تغییرات ویسکوزیته در برابر سرعت برشی برای نمونه شاهد و غلظت 2 درصد در شکل (1) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که شاخص رفتار جریان در همه نمونه‌ها کمتر از 1 بود که مؤید رفتار رقیق‌شونده با برش (شبه پلاستیک) مخلوطها است. در واقع عامل تقویت رفتار شل‌شونده با برش، کاهش شاخص رفتار جریان می‌باشد (پورثانی و همکاران، 1395) که با افزایش غلظت شیرین بیان در فرمولاسیون، شاخص رفتار جریان کاهش یافت. ضریب قوام که ملاکی برای اندازه‌گیری بافت مواد غذایی نیمه جامد است (Sopade & Kassum, 1992) در این پژوهش با افزایش درصد شیرین بیان تا غلظت 6 درصد افزایش و سپس کاهش یافت. با افزایش درصد صمغ موجود در شیرین بیان، به دلیل افزایش تعداد مولکول‌های با وزن مولکولی بالا در فاز مایع و در نتیجه افزا یش مقاومت در برابر جریان، مقدار ضریب قوام نمونه‌ها افزایش یافت (BahramParvar *et al*., 2010; Razavi & Karazhiyan, 2008; Emadzadeh *et al*., 2011). همانطور که در شکل (1) مشاهده می‌شود روند تغییرات ویسکوزیته ظاهری در برابر سرعت برشی بیانگر رفتار شبه پلاستیک نمونه‌ها

است، یعنی ویسکوزیته ظاهری با افزایش سرعت برشی کاهش یافت. بروز چنین رفتاری به این دلیل است که مولکول‌ها در سرعت‌های برشی پایین به‌صورت نامنظم آرایش پیدا می‌کنند و تنها به‌صورت جزئی هم‌راستا می‌باشند که این به ایجاد ویسکوزیته بالا منجر می‌شود. هنگامی که سرعت برشی افزایش می‌یابد هم‌راستایی مولکول‌ها بیشتر می‌شود و در نتیجه اصطکاک داخلی افزایش یافته و ویسکوزیته ظاهری کاهش می‌یابد (Glicksman, 1982; Rha, 1975). لازم به ذکر است که بین کاهش ویسکوزیته و افزایش سرعت برشی رابطه‌ای وجود دارد. بدین صورت که می‌توان گفت در سرعت‌های برشی پایین کاهش شدید ویسکوزیته با سرعت صورت می‌گیرد، اما در سرعت‌های برشی بالاتر این کاهش با روند آهسته‌تری صورت می‌گیرد.

جدول6- پارامترهای مدل قانون توان برای نمونه‌های خامه زده شده حاوی عصاره شیرین بیان

نمونه	k	n	R^2
کنترل	0/221	0/518	0/99
2 درصد	0/298	0/481	0/99
4 درصد	0/510	0/404	0/98
6 درصد	0/546	0/304	0/98
8 درصد	0/158	0/285	0/99



شکل 1- منحنی ویسکوزیته در برابر سرعت برشی برای نمونه شاهد (آبی) و نمونه 2 درصد (قرمز)

کاهش سریع ویسکوزیته با فروپاشی ساختار خامه قنادی توجیه می‌شود (Izidoro *et al.*, 2008; Lim *et al.*, 2008). رفتار شل‌شوندگی با برش اکثر امولسیون‌های تغلیظ شده با روغن به تشکیل شدن دسته‌ها و انباشته‌شدن گلبول‌های چربی مربوط می‌گردد (Quemada, 1998). صمغ‌ها خود دارای خاصیت شل‌شوندگی هستند، لذا باتوجه به وجود صمغ در ریشه شیرین بیان و با افزایش غلظت صمغ‌ها، انحراف بیشتری از حالت نیوتنی در رفتار جریان نمونه‌ها مشاهده می‌شود (جاویدی و همکاران، 1393). روند تغییراتی که در ویسکوزیته مشاهده شد با روند تغییرات آب‌اندازی مشابه بود که با نتایج فرجی و همکاران (1393) همخوانی نداشت.

Soukoulis و همکاران (2009) اثر فیبرهای رژیمی را بر خصوصیات رئولوژیک بستنی مطالعه کرده و نشان دادند که حضور فیبر در ترکیبات نامحلول به‌طور معنی‌داری ویسکوزیته ظاهری و رفتار رقیق‌شوندگی با برش را در بستنی افزایش می‌دهد. مهدیان و همکاران (1392) اثر جایگزینی چربی شیر با اینولین و کنسانتره پروتئینی شیر را بر خصوصیات فیزیکی وشیمیایی و حسی بستنی کم چرب مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که مخلوط کلیه نمونه‌ها دارای رفتار رقیق‌شوندگی با برش (رفتار غیرنیوتنی از نوع شبه پلاستیک) بوده و ویسکوزیته ظاهری با افزایش سرعت برشی کاهش یافت. همچنین نتایج پژوهش حاضر با نتایج پورثانی و همکاران

(1395) که تاثیر صمغ دانه بالنگو و کنسانتره پروتئین آب پنیر را بر خصوصیات رئولوژیکی بستنی بدون چربی بررسی نمودند و نتایج صالحی و همکاران (1395) که ویژگی‌های فیزیکی وشیمیایی، حسی و بافتی کیک اسفنجی غنی‌شده با پودرسیب را مورد بررسی قرار دادند مطابقت دارد.

تأثیرافزودن شیرین بیان بر پارامترهای بافت سنجی

میزان سختی، چسبندگی و نیروی چسبندگی نمونه‌ها با درصدهای مختلف شیرین بیان اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد با افزایش میزان شیرین بیان در فرمولاسیون خامه زده شده سختی، چسبندگی و نیروی چسبندگی در تمام نمونه‌ها به غیر از 4 درصد روند افزایشی داشت. به‌طور کلی بیشترین میزان سختی، چسبندگی و نیروی چسبندگی از نظر کمی مربوط به تیمار 8 درصد و کمترین میزان این پارامترها مربوط به تیمار 4 درصد شیرین بیان بود. تحقیقات نشان داده است که ویژگی‌های بافتی مواد غذایی تا حد زیادی تحت تأثیر ماهیت و ساختار اجزاء و برهمکنش‌های موجود در بین مواد فرمولاسیون می‌باشد (شهیدی و همکاران، 1392). سختی نشان‌دهنده قدرت ژل نمونه است. افزایش درغلظت صمغ‌ها منجر به افزایش سختی می‌شود (Zhao *et al.*, 2009, Javidi *et al.*, 2016). بنابراین با افزایش میزان شیرین بیان در فرمولاسیون، سختی افزایش می‌یابد.

صفری بیدختی (1393) طی پژوهشی تاثیر استفاده از عصاره هیدروکلوئیدی چوبک را بر خصوصیات رئولوژیکی و بافتی ماست کم‌چرب بررسی نمود. در این پژوهش از صمغ گیاه چوبک در فرمولاسیون ماست استفاده شد. نتایج نشان داد افزودن غلظت‌های مختلف صمغ چوبک به ماست تفاوت معنی‌داری را در میزان سختی نسبت به نمونه شاهد ایجاد کرد. Akalin و Erisir (2008) اثرات اینولین و الیگوفروکتوز را بر روی مشخصات رئولوژیکی بستنی پروبیوتیک کم‌چرب مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که کاربرد اینولین در ترکیب بستنی کم‌چرب پروبیوتیک منجر به افزایش سختی آن می‌شود. جاویدی و همکاران (1393) کاربرد صمغ‌های دانه ریحان و گوار را به‌عنوان جایگزین چربی در بستنی وانیلی بررسی نمودند و مشاهده کردند که کاربرد صمغ و افزایش مقدار آن، علیرغم کاهش آب در دسترس انجماد، به دلیل افزایش ویسکوزیته باعث سفت‌تر شدن بستنی گردید و برای پارامترچسبندگی روندی مشابه با ویژگی سختی به‌دست آمد.

چسبندگی نشان‌دهنده قابلیت جریان یا حالت مایع مواد است (Clarke, 2012). در واقع چسبندگی این است که می‌توان یک ماده را قبل از شکستن تغییر شکل داد (Civille & Szczesniak, 2002; Szczesniak, 1973).

Zhao و همکاران (2009) در دو تحقیق جدا گانه، تاثیر صمغ گزانتان و هیدروکسی‌پروپیل متیل سلولوز را بر روی خواص بافتی خامه قنادی مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش‌ها رابطه‌ی بین خواص بافتی (سفتی، قوام، چسبندگی و لزجت) خامه قنادی مورد بررسی قرار گرفت و در هر دو مورد یک رابطه مثبت بین پارامترهای ذکرشده با مقدار صمغ گزانتان و هیدروکسی پروپیل‌متیل سلولز مشاهده شد. همچنین نتایج پژوهش حاضر با نتایج باطبی و همکاران (1392) که بهینه‌سازی دسر لبنی با استفاده از استویا و کربوکسی متیل سلولز را انجام دادند و مشاهده کردند که با افزایش میزان استویا و صمغ کربوکسی‌متیل سلولز در فرمولاسیون، چسبندگی بافت به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، مطابقت دارد. قهرمانی و همکاران (1397) گزارش کردند افزایش سفتی، چسبندگی و نیروی چسبندگی در سس مایونز با افزایش درصد جایگزینی عصاره چوبک با تخم‌مرغ به این دلیل است که در مقادیر بالاتر، عصاره چوبک قادر به تشکیل ژل مستحکم‌تری می‌باشد، ساختار امولسیون مستحکم‌تر شده و میزان سفتی، چسبندگی و نیروی چسبندگی سس افزایش می‌یابد.

جدول7- تأثیر افزودن شیرین بیان بر پارامترهای بافت‌سنجی نمونه‌های خامه زده شده

درصد شیرین بیان	سختی(N)	چسبندگی(Jul)	نیروی چسبندگی(N)
تیمار کنترل	119/463	-50/075	-1206/17
%2	147/219	-69/504	-1460/13
%4	70/1975	-34/2315	-738/9315
%6	149/9945	-70/3135	-1506/59
%8	160/171	-84/191	-1751/87

در این پژوهش به دلیل زیاد شدن تعداد آزمون‌ها و نبودن پانلیست آموزش دیده از انجام آزمون‌های ارگانولپتیکی صرف نظر شد اما بر اساس آزمایشات بصری و با توجه به رنگ شیرین بیان، افزایش شیرین بیان تأثیر منفی بر روشنی ظاهری خامه زده شده داشت و

موجب تیره شدن رنگ محصول نهایی شد. علاوه بر این در نمونه‌های حاوی شیرین بیان با توجه به اینکه شیرین بیان حاوی مواد تلخ مانند است (Morton, 1977) در کنار افزایش طعم شیرین، ته مزه تلخ احساس شد که با افزایش درصد شیرین بیان این ته مزه تلخ افزایش یافت.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست آمده از آنالیز آماری مشخص گردید که با افزایش شیرین بیان در فرمولاسیون خامه زده شده، مقادیر زمان زدن و اسیدیته افزایش و pH کاهش و همچنین آب‌اندازی نمونه‌ها تا سطح 6 درصد افزایش و سپس کاهش یافت. افزایش حجم نمونه‌ها نیز تا سطح 4 درصد شیرین بیان افزایش و سپس کاهش یافت. بررسی خصوصیات رئولوژیکی نشان داد که با افزودن شیرین بیان، نمونه‌ها دارای رفتار رقیق‌شونده با برش بوده و ویسکوزیته آن‌ها با افزایش سرعت برشی کاهش یافت. از سوی دیگر با افزودن شیرین بیان سختی، چسبندگی و نیروی چسبندگی در تمامی نمونه‌ها به‌جز 4 درصد افزایش یافت. به‌طور کلی می‌توان گفت با به‌کارگیری شیرین بیان به‌عنوان یک فرآورده گیاهی و کاملا طبیعی در فرمولاسیون خامه زده شده تا غلظت 4 درصد وزنی می‌توان محصولی با افزایش حجم بیشتر و بافتی مطلوب‌تر که از نقطه نظرسلامت مصرف‌کنندگان مفید باشد تولید کرد، علاوه بر این با توجه به کم بودن میزان نیاز استفاده و قیمت مناسب شیرین بیان و همچنین با توجه به بومی بودن و عدم نیاز به واردات، استفاده از آن در صنعت به منظور فرآوری خامه قنادی مقرون به صرفه بوده، بنابراین به‌نظر می‌رسد استفاده از موادی همچون شیرین بیان در صنعت تولید فرآورده‌های هوادهی شده مطلوب می‌باشد.

منابع

احمدی، م.ا.، رفتنی امیری، ز. و حسینی پرور، س.ه.، 1391، بررسی امکان کاربرد صمغ فارسی به‌عنوان پایدارکننده در بستنی، دومین سمینار ملی امنیت غذایی.

امیری جم، ز .، 1393، مدل سازی پایداری خامه قنادی حاوی صمغ گزانتان و کنسانتره پروتئین آب پنیر با استفاده از روش سطح پاسخ، پایان نامه دوره کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس.

اردلان، ب.، پوراحمد، ر. و مهدوی عادلی، ح.ر.، 1395، اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز و صمغ لوبیای لوکاست بر ویژگی های فیزیکی شیمیایی و حسی بستنی سنتی زعفرانی، نشریه پژوهش های صنایع غذایی، 27(1)، 26-13.

باطبی، ر.، نقی پور، م.، عندلیب، پ. و نصرا...پور، ب.، 1392، بهینه‌سازی دسر لبنی با استفاده از استویا و کربوکسی متیل‌سلولز، نشریه فرآوری و تولید مواد غذایی، 2، 64-57.

پورثانی، پ.، رضوی، س.م.ع. و مظاهری تهرانی، م.، 1395، تاثیر صمغ دانه بالنگو و کنسانتره پروتئین آب پنیر بر خصوصیات رئولوژیکی بستنی بدون چربی، اولین کنگره بین المللی و بیست و چهارمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، 6-1.

جاویدی، ف.، رضوی، س.م.ع. و مظاهری تهرانی، م.، 1393، بررسی کاربرد صمغ های دانه ریحان و گوار به‌عنوان جایگزین چربی در بستنی وانیلی، بیست و دومین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، 5-1.

جوینده، ح.، دانش، ع. و گودرزی، م.، 1395، تأثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی بر ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی، بافتی و ارگانولپتیکی بستنی نیم چرب، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، 13(4)، 479-469.

شهیدی، ف.، خلیلیان، ص.، محبی، م.، خزایی، ا. و مقامی کیا، ح.، 1392، بررسی اثر نشاسته و گوار بر پارامترهای بافتی، رنگی و پذیرش پاستیل هویج، نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی، 4(2)، 28 -15.

صالحی، ف.، کاشانی‌نژاد، م. و علی پور، ن.، 1395، بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و بافتی کیک اسفنجی غنی شده با پودر سیب، فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، 11، 47-39.

صفری بیدختی، م.، 1393، بررسی تأثیر استفاده از عصاره هیدروکلوئیدی چوبک بر خصوصیات رئولوژیکی و بافتی ماست، پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی- علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد سبزوار، سبزوار.

عزیزی، ش.، مرتضوی، س.ع.، شفافی زنوزیان، م. و هوشمند دلیر، م.ا.، 1393، بررسی تاثیر ایزوله پروتئین سویا (SPI)وصمغ ثعلب بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی خامه زده کم‌چرب، نشریه نوآوری در علوم و فنّاوری غذایی، 4، 18-9.

غلامحسین پور، ع. ا. و مظاهری تهرانی، م.، 1390، استفاده از کنسانتره پروتئینی شیر (MPC-85) در تولید خامه کم‌چرب و ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آن، نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران، 7(2)، 178-172.

فرجی، ب.، امام جمعه، ز.، الهی، م.، محبی، م. و جودکی، ح.، 1393، بررسی تاثیر صمغ دانه قدومه شهری بر روی پایداری خامه قنادی. سومین همایش ملی علوم وصنایع غذایی، 9-1.

قدس روحانی، م.، 1385، اصول فراوری شیر و فراورده‌های شیری، نشرآموزش کشاورزی، صفحه 78.

قهرمانی، ن.، کاراژیان، ح. و شریفی، ا.، 1397، ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بافتی سس مایونز حاوی عصاره گیاه چوبک به‌عنوان جایگزین تخم‌مرغ، نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی، 10، 126-117.

کاراژیان، ح.، حسینی بای، ا. و میرزائی، ح.، 1395، خصوصیات رئولوژیکی عصاره شیرین بیان، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، 12(1)، 200-193.

کاراژیان، ح. و کیهانی، و.، 1393، بررسی تأثیر عصاره چوبک به‌عنوان جایگزین سفیده تخم‌مرغ بر کیفیت کیک اسفنجی، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، 1، 76-63.

کاتوزیان، ا.، معتمد زادگان، ع. و دانشی، م.، 1393، تاثیر مالتودکسترین بر ویسکوزیته و رفتار جریانی خامه قنادی، همایش ملی علوم و فناوری‌های نوین در صنایع غذایی، 8-1.

کاتوزیان، ا.، معتمد زادگان، ع. و دانشی، م.، 1394، تاثیر افزودن سوکرالوز و مالتودکسترین بر خواص رئولوژیکی، فیزیکیوشیمیایی و حسی خامه قنادی، نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی، 8(1)، 40-23.

کیهانی، و.، مرتضوی، س.ع.، کریمی، م.، کاراژیان، ح. و شیخ الاسلامی، ز.، 1394، بررسی و مقایسه تاثیر عصاره چوبک (*Acanthophyllum Glandulosum*) و امولسیفایر منو و دی گلیسرید بر ویژگی های کیفی کیک روغنی، نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، 4(2)، 172-153.

گوهری اردبیلی، ا.، حبیبی نجفی، م.ب. و حداد خداپرست، م.ح.، 1384، بررسی تاثیر جایگزینی شکر با شیره خرما بر ویژگی‌های فیزیکی و حسی بستنی نرم، مجله پژوهش‌های علوم صنایع غذایی ایران، 10-1.

مقیمی پور، ا. و خلیلی، س.، 1386، استخراج ساپونین های تام ریشه شیرین بیان و مقایسه فعالیت کاهش دهنده کشش سطحی آن با ساپونین های کیلایا در حضور کلسترول، علوم داروئی، 55 -47.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.، 1385، شیر و فرآورده های آن – تعیین اسیدیته و pH- روش آزمون، استاندارد ملی ایران، شماره 2852، چاپ اول.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.، 1389، خامه پاستوریزه و خامه فرادما(UHT)– ویژگی ها و روش های آزمون، استاندارد ملی ایران، شماره 191، تجدید نظر سوم.

مهدیان، ا.، کاراژیان، ر. و صبری، س.، 1392، بررسی اثر جایگزینی چربی شیر با اینولین و کنسانتره پروتئینی شیر بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی کم چرب، مجلّه نوآوری در علوم و فنّاوری غذایی، 4، 51-44.

نقی‌زاده رئیسی، ش.، شهیدی یاساقی، س. ا.، اسفندیاری، ز. و قربانی حسن سرایی، آ.، 1387، تأثیر پایدارکننده‌ها و مقدار چربی بر ویژگی‌های همزنی و فیزیکی خامه قنادی، مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری موادغذایی، 1(1)، 85-73.

Akalin, A.S. & Erisir, D., 2008, Effects of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low fat probiotic ice cream. *Journal of Food Science*, 73(4), 184-188.

Anderson, M. & Brooker, B.E., 1988, *Dairy foams*. P221-255, In E. Dickinson, and G. Stainsby (Eds.), Advances in food emulsions and foams. Elsevier Applied Science, London.

Akın, M.B., Akın, M.S. & Kırmac, Z., 2007, Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. *Food Chemistry*, 104(1), 93-99.

Baran, A. & Fenercioglu, H., 1991, A research study on thedetermination of the properties and preservation of licorice extract. *Gida*, 16(6), 391-396.

BahramParvar, M., Razavi, S.M.A. & Khodaparast, M.H.H., 2010, Rheological characterization and sensory evaluation of a typical soft ice cream made with selected. *Food Science and Technology International*, 16(1), 79-88.

Bruhn, C.M. & Bruhn, J.C., 1988, Observations on the Whipping Characteristics of Cream. Journal of Dairy Science, 71(3), 857-862.

Camacho, M.M., Martinez-Navarrete, N. & Chiralt, A., 1998, Influence of locust bean gum/λ-carrageenan mixtures on whipping and mechanical properties and stability of dairy creams. *Food Research International*, 31(9), 653-658.

Clarke, C., 2012, The Science of Ice Cream. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

Civille, G.V. & Szczesniak, A.S., 1973, Guidelines to training a texture profile panel. *Journal of Texture Studies*, 4(2), 204–223.

Dickinson, E. & Stainsby, G., 1987, Progress in the formulation of Food emulsions and foams. *Food Technology*, 41, 74-82.

Emadzadeh, B., Razavi, S.M.A. & Hashemi, M., 2011, Viscous Flow Behavior of Low-Calorie pistachio Butter: A Response Surface Methodology. *International Journal of Nuts and Relate Sciences*, 2(1), 37-47.

Emam-Djome, Z., Mousavi, M.E., Ghorbani, A.V. & Madadlou, A., 2008, Effect of whey protein concentrate addition on the physical properties of homogenized sweetened dairy creams. *International Journal of Dairy Technology*, 61(2), 183-191.

Glicksman, M., 1982, Food Hydrocolloids. Boca Raton, Florida, CRC Press Inc, pp, 68–75.

Hostettman, k. & Marston, A., 1996, Chemistry and pharmacology of natural products: Saponins. University press, UK, 7335.

Ibanoglu, E. & Ibanoglu, S., 2000, Foaming behaviour of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) extract. *Food Chemistry*, 70(3), 333-336.

Izidoro, D.R., Scheer, A.P., Sierakowski, M.-R. & Haminiuk, C.W.I., 2008, Influence of green banana pulp on the rheological behaviour and chemical characteristics of emulsions (mayonnaises). *LWT Food Science and Technology*, 41(6), 1018– 1028.

Javidi, F., Razavi, S.M., Behrouzian, F. & Alghooneh, A., 2016, The influence of basil seedgum, guar gum and their blend on the rheological, physical and sensory properties of low fat ice cream. *Food Hydrocolloids*, 52, 625–633.

Lim, S.Y., Swanson, B.G., Ross, C.F. & Clark, S., 2008, High Hydrostatic Pressure Modification of Whey Protein Concentrate for Improved Body and Texture of Low-fat Ice Cream. *Journal of Dairy Science*, 91(4), 1308-1316.

Milani, F.X., 1993, Modification and Pilot Production of Induced Complex Formation between Xanthan Gum and Whey Proteins at Reduced pH Value. *Dissertation Abstracts International*, Abst, 54 (7) 3414.

Morton, J.f., 1977, Major medicinal plants. Charles C. Thomas publishers. Spring field-Illinois, USA.

Mukhopadhyay, M. & Panja, p., 2008, A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (Glycyrrhiza glabra) roots. *Separation and Purification Technology*, 63(3), 539-545.

Noda, M. & Shiinoki, Y., 1986, Microstructure and rheological behavior of whipping cream. *Journal of Texture Studies*, 17(2), 189-204.

Nguyen, V., Duong, C.T. & Vu, V., 2015, Effect of thermal treatment on physical properties and stability of whipping and whipped cream. *Journal of Food Engineering*, 163, 32–36.

Pak, T., 1995, Dairy processing handbook. Tetra pak processing systems, Lund, Sweden.

Prentice, J.H., 1992, Dairy rheology, a concise guide. New York: VCH Publishers.

Pasban, A., Mohebbi, M., Pourazarang, H., Varidi, M. & Abbasi, A., 2014, Optimization of foaming condition and drying behavior of white button mushroom (*Agaricusbisporus*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 737-744.

Quemada, D., 1998, Rheological modelling of complex fluids. I. The concept of effective volume fraction revisited, 119-127.

Razavi, S.M.A. & Karazhiyan, H., 2008, Flow properties and thixotropy of selected hydrocolloids: Experimental and modeling studies. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 908-912.

Rha, C., 1975, Theories and principles of viscosity. In C. Rha (Ed.), "Theory determination and control of physical properties of food materials". Dordreretch, The Netherlands, Reidel, pp. 123-141.

Sajedi, M., Nasirpour, A., Keramat, J. & Desobry, S., 2014, Effect of modified whey protein concentrate on physical properties and stability of whipped cream. *Food Hydrocolloids*, 36, 93-101.

Simon, J.E., Chanwich, A.F. & Craker, L.E., 1984, Herbs: and indixed biliography. The scientific literature on selected herbs and aromatic and medicinal plant of the temperate zone. Elsevier, *Amsterdam*, 1971-1980.

Smith, A.K., Goff, H.D. & Kakuda, Y., 2000, Microstructure and rheological properties of whipped cream as affected by heat treatment and addition of stabilizer. *International Dairy Journal*, 10(4), 295–301.

Sopade, P.A. & Kassum, A.L., 1992, Rheological characterization of akamu a semi-fluid food from maize millet and sorghum. *Journal of Cereal Science*, 15(2), 193-202.

Soukoulis, C., Lebesi, D. & Tzia, C., 2009, Enrichment of ice cream with dietary fibre: Effects on rheological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. *Food Chemistry*, 115(2), 665–671.

Szczesniak, A.S., 2002, Texture is a sensory property. Food Quality Preference, 13(4), 215–225.

Van Lent, K., Thu Le, C., Vanlerberghe, B. & Van der Meeren, P., 2008, Effect of formulation on the emulsion and whipping properties of recombined dairy cream. *International Dairy Journal*, 18(10-11), 1003-1010.

Zhao, Q., Zhao, M., Li, j., Yang, B., Su, G., Cui, Ch. & Jiang, Y., 2009, Effect of hydromethylcellulose on the textural and whipping properties of whipped cream. *Food Hydrocolloids*, 23, 2168-2173.

Zhao, Q., Zhao, M., Yang, B. & Cui, Ch., 2009, Effect of xanthan gum on the physical properties and textural characteristics of whipped cream. *Food Chemistry*, 116(3), 624-628.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 419-431

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 431-419

Physical and chemical properties of whipped cream containing Liquorice powder

Z. Hosseinpour[1], H. Karazhiyan[2*]

Received: 2018.09.09
Accepted: 2019.03.04

Introduction: Whipped cream is one of the cream products that is widely used in confectionary products and is bulked by whipping and incorporating air bubbles. Cream is converted to a foam system by aeration process. The continuous phase is liquid serum and the dispersed phase is air bubbles. Profit formation of a complex foam-emulsion structure of whipped cream to create a desirable texture is dependent on different factors such as whipping conditions, fat content, and presence of stabilizers. A whipped cream with appropriate quality should contain 30-40% milk fat, easily whippable, and produce good foam with high over run. It should also have a long shelf-life and maintain its stability during preservation. Liquorice is one of the oldest pharmaceutical plants, whose active ingredients are used in pharmacy, confectionary, and beverage industries. The most important active ingredient is glycyrrhizic acid which is 50 times sweeter than sucrose. Its root is also an overflowing source of saponin which has different physiochemical properties. Stable foam formation is a property of saponin index. Liquorice saponin can be used in industrial use especially in pharmaceutical, food, and cosmetics industries. The aim of current research is to evaluate physiochemical and rheological properties and textural attributes of whipped cream containing different levels of liquorice powder as an aerating and foaming agent.

Matrials and methods: Whipped cream was produced from cream with at least 70% fat content, low fat pasteurized milk with 1.5% fat content, milk protein concentrate with 70% protein content, vanilla, sucrose, and different levels of liquorice powder (2, 4, 6, and 8%). Whipping time, acidity, pH, over run, and syneresis of final products were evaluated. Rheological properties were studied at 4^0C and at shear rate 0-100 S^{-1}. Textural attributes were evaluated using back extrusion with a cylindrical probe (38 mm diameter) and penetration rate 1 mm/s and penetration depth 30 mm.

Results and discussion: Whipping time increased with elevation of liquorice percentage in whipped cream formulation, which is due to presence of stabilizers which can both increase the viscosity of liquid phase and prevent foaming properties of milk proteins from protein-stabilizer interactions. The highest over run belonged to 4% treatment while the lowest magnitude was reported for 8% sample. Over run quantity is dependent on different factors such as mixture ingredients including fat content, solid materials, sweeteners, and presence of stabilizers. Due to presence of saponin in liquorice, it can be concluded that elevation of over run in samples containing liquorice up to 4% is probably because of foaming ability of saponins. From literature review, it has been reported that with the rise in gum concentration (gum in liquorice), over run decreases in the foam system. Generally, with further increase in viscosity of the liquid phase with the growth of gum concentration, air bubbles cannot be introduced to the system through aeration process. Hence, the descending trend in over run of samples containing 6 and 8% liquorice is probably due to higher viscosity of the whipped cream. Acidity content of samples also increased. Acidity increment in whipped cream samples with liquorice rise is probably due to the acidic nature of saponins in liquorice powder. PH was reduced significantly with an increase in liquorice amount in the formulation a growth in acidity. Saponins present in the extract can produce acidic properties to some extent. The highest extent of syneresis in different samples was reported for 6% while the lowest amount was for 2%. Syneresis in confectionary cream shows emulsion rupture and has a close relationship with product viscosity. So it can be expected that higher viscosity in whipped cream results in less syneresis in the final product. According to the results of the current research, syneresis value in 2% was lower compared to control sample, which is probably due to the increase in viscosity of the whipped cream. With elevation of liquorice, syneresis increased compared to the control sample. As indicated, liquorice root has gum and gums increase the viscosity of the final product, thereby reducing syneresis by absorbing water and incorporating it in the gelly network.

1. Graduated Student, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Torbat Heydarieh Branch, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Torbat Heydarieh Branch, Islamic Azad University, Torbat Heydarieh, Iran.
(*- Corresponding Author Email: Hojjat_Karazhiyan@yahoo.com)

Power law model was selected for predicting rheological properties of samples. The results suggested that flow index behavior was less than 1 in all samples indicating non-Newtonian, pesudoplastic behavior. Apparent viscosity versus shear rate showed shear thinning behavior, which indicated that the apparent viscosity diminished with increase in the shear rate. Gums have shear thinning behavior, so regarding the presence of gum in liquorice and augmented liquorice percentage, more deviation from Newtonian state was observed. Textural analysis indicated that hardness, adhesiveness, and adhesive force had an ascending trend with increase in liquorice percentage except for 4% sample. Totally, it can be concluded that a desirable product with higher over run and profit texture can be obtained using liquorice powder as a natural, native, local plant product in whipped cream formulation with pharmaceutical properties which can be potentially useful for the health of consumers.

Keywords: *Glycyrrhiza glabra*, Whipped cream, overrun, textural attributes, Viscosity.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 433-439

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 439-433

تشخیص اختصاصی آفلاتوکسین G1 بر مبنای رنگ‌سنجی آپتاسنسور به‌وسیله سوسپانسیون نانو ذرات طلا شده

آرزو هاشم‌نیا[1]- وحید حکیم‌زاده[2]*

تاریخ دریافت: 1396/11/21
تاریخ پذیرش: 1398/01/17

چکیده

آفلاتوکسین‌ها سموم قارچی طبیعی هستند که از گونه‌های قارچ *آسپرژیلوس* مانند *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* نشات می‌گیرند. این سموم اگر از راه مواد خوراکی وارد بدن شوند می‌توانند سرطان‌زا باشند. روش‌های تشخیصی متفاوتی برای آفلاتوکسین وجود دارد که زمان‌بر و پرهزینه می‌باشد. روش آپتاسنسورهای رنگ‌سنجی به‌وسیله نانو ذرات طلای سوسپانسیون شده در آب، روشی سریع و اختصاصی می‌باشد که با استفاده از یک ملکول شناساگر با درجه انتخابی بالا انجام می‌شود در این پژوهش آپتامری با توالی GTTGGGCACGTGTTGTCTCTCTGTGTCTCGTGCCCTTCGCTAGGCCCACA برای تشخیص چهار آفلاتوکسین B_1، B_2، G_1 و G_2 استفاده شد. نتایج نشان داد که این آپتامر به‌طور اختصاصی توانایی تشخیص آفلاتوکسین G_1 را داشت به نحوی که هنگام اضافه شدن آفلاتوکسین G_1 به محلول حاوی آپتامر و نانوذرات طلا ، آپتامر دچار تغییر ساختار شده و از نانو ذرات طلا جدا می‌شود و جذب آفلاتوکسین می‌گردد. پس از جدا شدن آپتامر، نانوذرات ناپایدار شده بلافاصله تجمع و رسوب داده که منجر به تغییر رنگ از قرمز به بنفش می‌گردند. اما در مورد سایر آفلاتوکسین های مورد بررسی چنین تغییر رنگی مشاهده نشد که نشان‌دهنده آن است که این آپتامر در برابر آن‌ها به تغییر ساختار حساس نیست و اختصاصی عمل نمی‌کند.

واژه‌های کلیدی: آپتامر، آفلاتوکسین، بیوسنسور، سوسپانسیون، نانوذرات طلا.

مقدمه

هنگامی که اندازه ماده به مقیاس طولی در حد نانومتر (طول حرکت الکترونی که خواص ماده را تعیین می کند) کاهش می یابد خواص الکترونی و بنابراین خواص شیمیایی آن به شدت تغییر می‌کند. در نانوذراتی مانند طلا و نقره، نوسان منسجم تجمعی از الکترون‌ها در نوار رسانش، میدان‌های الکتریکی سطحی بزرگی را القا می‌کند که در صورت برهمکنش با تابش رزونانسی الکترومغناطیسی، خواص تابشی آن ها به شدت افزایش می‌یابد (El-Sayed, 2001). این روند باعث می‌گردد فرآیند جذبی این نانوذرات چندین برابر نیرومندتر از فرآیند جذبی قویترین مولکول‌های جاذب شود و نور پراکنده شده از آن‌ها نیز چندین برابر شدیدتر از فلورسانس رنگ‌های آلی باشد (Link and El-Seyed, 1999; Yguerabide, 1998). این خواص منحصر به‌فرد، پتانسیل بالایی را برای این نانوذرات فراهم می‌کند تا بتوانند در بسیاری از کاربردها مانند سنسورهای بیوشیمیایی، تصویربرداری بیولوژی و درمان‌های پزشکی مورد استفاده قرار گیرند (Freund and Spiro, 1986; Mirkin *et al.*, 1996 and Hirsch *et al.*, 2003). سوسپانسیون نانوذرات طلا هنگامی که در معرض یک پرتو نور سفید قرار می‌گیرد، نور رنگی پراکنده می‌کند و می‌تواند همانند محلول‌های فلورسانس ظاهر شوند (Eustis, 2004 and Shankar *et al.*, 2006). پراکندگی نور به اندازه، شکل وکامپوزیت نانوذرات حساس است به‌طوریکه نانوذرات کروی با اندازه 58 نانومتر، نور سبز و هنگامی که 78 نانومتر باشد، نور زرد را پراکنده می‌کنند. از این نظر، نانوذرات طلا دارای پتانسیل بالایی برای کاربردهای تصویربرداری پزشکی می‌باشند (Akbari *et al*, 2011). اگرچه احتمال سمیت نانوذرات مانند نانوذرات نقره وجود دارد اما نانوذرات طلا دارای سمیت نیست (Pan *et al.*, 2007).

آپتامرها الیگونوکلئوتیدهای کوتاه تک رشته‌ای DNA و یا RNA و یا پروتئین‌های اختصاصی هستند که این توانایی را دارند که به‌طور اختصاصی به هدفشان متصل شوند. پایه و اساس شناسایی هدف توسط آپتامرها، ساختار سوم تشکیل شده توسط آن‌ها می‌باشد (Blank and Blind, 2005; Stoltenburg *et al.*, 2007). آپتامرها آنقدر اختصاصی عمل می‌کنند که می‌توانند حتی بین مولکول‌های کایرال نیز

1 و 2- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم وصنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

(* - نویسنده مسئول: Email: v.hakimzadeh@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.70900

تفاوت قائل شوند و قادرند یک اپی‌توپ متفاوت از مولکول هدف را تشخیص بدهند به‌طوری که حتی بین دو هدف مرتبط و نزدیک به هم از نظر ساختاری مانند کافئین و تئوفیلین تفاوت قائل می‌شوند (Stoltenburg *et al*., 2007). یکی از مزیت‌های مهم آپتامرها نسبت به آنتی‌بادی‌ها، اندازه کوچکتر آن‌ها می‌باشد که سبب نفوذ راحت‌تر و موثرتر آن‌ها می‌شود. همچنین آپتامرها سمیت و یا مشکلات ایمونولوژی نداشته و یا میزان آن ها بسیار کم است. در ضمن به‌راحتی اصلاحات شیمیایی روی آن‌ها انجام می‌شود و می‌توان مقدار زیادی از آن ها را با هزینه کم تولید کرد. به‌علاوه چون به‌صورت برون‌تنی تهیه می‌شوند بدون نگرانی از نظر سمیت و ایمونولوژی قابل استفاده هستند، همچنین در برابر شرایط احیاءکننده و دمای بالا پایدار بوده و از نظر اختصاصیت و تمایل برای هدف اگر بیشتر از آنتی‌بادی نباشند کمتر از آن‌ها نیستند (Que and Sullenger, 2007; Hicke *et al*., 2006; Ohuchi *et al*., 2006). بنابراین بیوسنسورهایی که از آپتامرها به‌عنوان عناصر شناسایی‌کننده زیستی استفاده می‌کنند، به‌عنوان آپتاسنسور شناخته می‌شوند (Zhou *et al*., 2011; Hermman and Patel, 2000).

آفلاتوکسین‌ها سمومی هستند که به‌وسیله تعدادی از قارچ‌ها که عمدتا از خانواده *آسپرژیلوس*‌ها هستند برروی خوراک دام و مواد غذایی رشد می‌کنند و نسبت به سایر سموم قارچی به علت اثرات سرطان زائی و ایجاد مسمومیت‌های حاد از اهمیت بیشتری برخوردارند. در طبیعت چهار نوع آفلاتوکسین اصلی شامل B_1، B_2، G_1 و G_2 و دو نوع محصولات متابولیکی از آنها به نام‌های M_1 و M_2 وجود دارند که می‌توانند خوراکهای دام و انسان همانند ذرت، سورگوم، گندم، سویا، کنجاله پنبه دانه، بادام‌زمینی، آجیل‌ها و خشکبار را آلوده سازند (Alex *et al*., 2014). در این تحقیق با توجه به زیان‌های زیاد ناشی از آفلاتوکسین‌ها به مواد زراعی و مسمومیت‌های ناشی از آن‌ها شناسایی سریع این سموم به روش آپتاسنسور مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

سنتز و آماده‌سازی نانوذرات طلا

ابتدا محلول با غلظت 50 میلی‌مولار از نمک تتراکلرید طلا تهیه شد و سپس 2 میلی‌لیتر از آن به حجم 100 میلی‌لیتر رسانده شد و هنگام حرارت دادن آن مقدار 10 میلی‌لیتر سیترات سدیم 38 نانومولار نیز به آن اضافه گردید. محلول پس از 20 دقیقه حرارت دادن برای سرد شده به داخل یخچال انتقال یافت.

برای هر تست میزان نانوگلد مورد نیاز طی دومرحله با سرعت 12000 rpm در دمای اتاق به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ گردید. به این صورت که پس از اتمام دور اول سانتریفوژ، مایع رویی یا سوپرنانت برداشته شد و با آب مقطر مخلوط و دوباره سانتریفوژ گردید. در نهایت سوپرنانت به‌دست آمده از مرحله دوم با 1500 میکرولیتر آب مقطر به‌خوبی مخلوط گردید(Shankar *et al*., 2004).

سنتز آپتامر

آپتامرها طی فرایندSELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) انتخاب و تکثیر شدند. فرآیند SELEX یک تکنیک برون‌تنی برای انتخاب، تکثیر و غنی‌سازی الیگونوکلئوتیدهای تک رشته‌ای (که برای هدف مورد نظر اختصاصی هستند) از میان کتابخانه‌ای از توالی اسیدهای نوکلئیک به شکل تصادفی است (Davis *et al*., 1996; Gopinath, 2007). نقطه شروع در فرآیند SELEX ایجاد خزانه‌ای از DNA یا RNA است که حاوی 135- 133 قطعه تک رشته‌ای از DNA باشد. معمولاً توالی منطقه وسط رشته‌ها تصادفی و حاوی حدود80 -20 نوکلئوتید است اما دو توالی مشخص و ثابت در دو طرف آن‌ها وجود دارد که حدوداً حاوی 21-18 نوکلئوتید است (Stoltenburg *et al*., 2007).

مراحل فرآیند SELEX به‌صورت خلاصه شامل مراحل زیر است:

1) اتصال: اتصال نوکلئوتیدها به مولکول هدف

2) شستشو: جداسازی کمپلکس آپتامر- هدف از سایر نوکلئوتیدهای باند نشده

3) جداسازی: جداسازی آپتامر از هدف مربوطه

4) تکثیر: تکثیر آپتامر مورد نظر توسط PCR به‌منظور اصلاح خصوصیات آپتامرهای انتخاب شده

5) آماده‌سازی: شامل جدا کردن دو رشته DNA و کاهش غلظت هدف به‌منظور افزایش تمایل آپتامرهای انتخاب شده (Blank and Blind, 2005; Stoltenburg *et al*., 2007).

غلظت‌سازی آفلاتوکسین‌ها

آفلاتوکسین‌های B_1, B_2, G_1, G_2 از شرکت سیگما خریده شد. سپس غلظت‌های مختلفی برای ساختن محلول‌های استوک از صفر تا 2000 نانومولار تهیه شد (Amini *et al*., 2014).

روش انجام آزمون

آزمون در یک پلیت 96 خانه انجام شد و برای هر غلظت سه تکرار در نظر گرفته شد. در هر آزمون 100 میکرولیتر از محلول نانوذرات طلا آماده شده در مرحله قبل در 11 غلظت و سه تکرار در خانه‌های پلیت تزریق شد. سپس 15 میکرولیتر از آپتامر با غلظت 5 میکرومول به همراه 10 میکرولیتر آب مقطر به خانه‌ها اضافه گردید و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق گرمخانه‌گذاری شد. پس از گذشت این مدت 25 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف آفلاتوکسین به همراه 15 میکرولیتر محلول نمک 2 مولار و 35 میکرولیتر آب مقطر به خانه‌ها اضافه شد و پس از اختلاط

دقیق آن (از طریق مکش و رانش سمپلر که اصطلاحا Up & Down نام دارد) در دستگاه الایزاریدر میزان جذب آن قرائت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

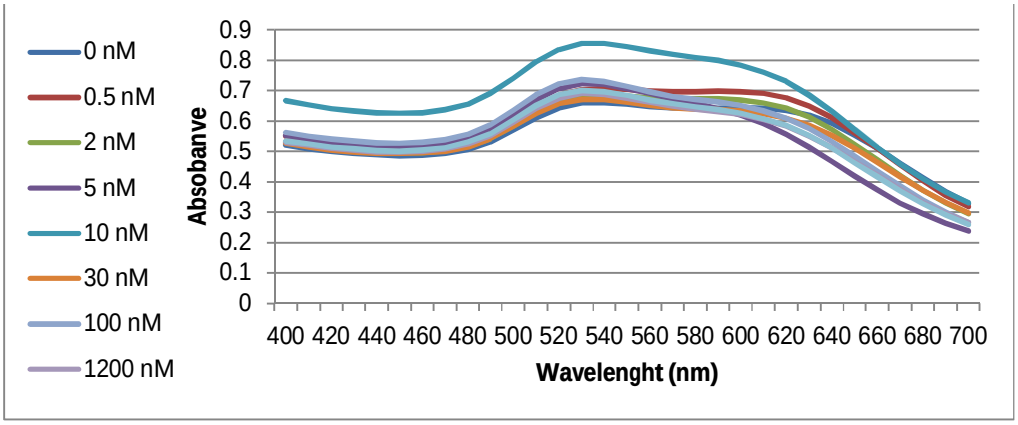
نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار Gen5 مورد ارزیابی قرار گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

نتایج و بحث

آفلاتوکسین G_1

میزان جذب محلول‌هایی که با آفلاتوکسین G_1 مخلوط شده است را می‌توان در شکل 1 مشاهده کرد. همانطور که در شکل دیده می‌شود نمونه‌ها در دو طول موج 520 و 620 نانومتر بیشترین جذب را داشتند. همانطور که می‌دانیم ذرات طلا در 520 نانومتر بیشترین جذب را دارند اما وقتی که ذرات طلا تجمع می‌یابند در 620 نانومتر بیشترین جذب را خواهند داشت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که آفلاتوکسین G_1 به این آپتامر اتصال برقرار کرده است. به عبارت دیگر، آپتامری که در ابتدا با نانوذرات طلا اتصال برقرار کرده بود پس از اضافه کردن آفلاتوکسین از ذرات طلا جدا شده و به آفلاتوکسین متصل شد و ذرات طلا تجمع یافتند. این تغییر رنگ با چشم مشاهده شد و رنگ نانوذرات طلا پس از آگلومره شدن از قرمز به بنفش تغییر رنگ می‌دهند. از نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که این آپتامر برای آفلاتوکسین G_1 هدفمند بوده و قادر به شناسایی آن بر اساس رنگ‌سنجی می‌باشد.

چن و همکاران (2013)، از یک روش کالریمتریک ساده و مشابه برای تشخیص یون پتاسیم استفاده کردند. آزمایش‌های کالریمتریک در نتایج این محققین نشان داد که پس از اضافه کردن یون K^+ کمپلکس anti-K^+ در محلول از ساختار پیچشی به ساختار فشرده و سختی به نام G-quadruplex تغییر می‌کند. که این ساختار باعث تغییر رنگ از قرمز به بنفش می‌شود که این تغییر رنگ قابل مشاهده است و با چشم مسلح دیده می‌شود. در تحقیق مشابه دیگر تاکور و همکاران (2013)، از تکنیک بیوسنسور کالریمتریک توسط آپتامر بر پایه نانوذرات‌طلا برای تشخیص ژن P53، که یک پروتئین سرکوبگر تومور است، استفاده کردند. نتایج این محققین نشان داد که دفع P53 از سطح سوسپانسیون نانوذرات طلا و اتصال آن به آپتامر RNA باعث تجمع نانوذرات طلا شده و در نتیجه منجر به تغییر رنگ سوسپانسیون از قرمز به بنفش گردید.



شکل 1- نمودار شدت جذب برای نمونه های حاوی آفلاتوکسین G_1

آفلاتوکسین G_2

همانطور که در نمودار جذب مربوط به نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین G_2 دیده می‌شود (شکل2) بیشترین جذب فقط در طول موج 520 نانومتر اتفاق افتاد و از آن به بعد میزان جذب روند نزولی داشت. به عبارت دیگر میزان جذب فقط مربوط به نانوذرات طلا بوده و بعد ازآن ذرات طلا نتوانستند با هم تجمع پیدا کنند. به بیان دیگر آپتامر با آفلاتوکسین G_2 اتصالی نداشته و این آپتامر برای تشخیص آفلانوکسین G_2 هدفمند نیست.

آفلاتوکسین B_1

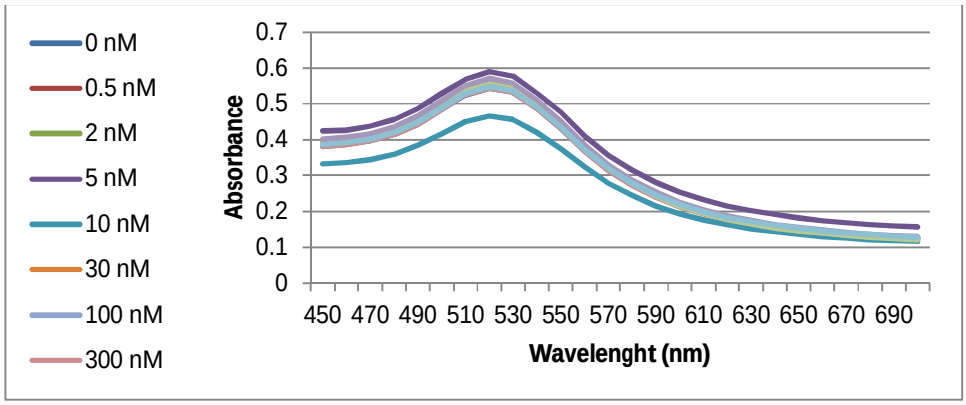
نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B_1 نیزبیشترین جذب را در 520 نانومتر نشان دادند و میزان جذب در طول موج‌های بعدی کاهشی بود بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این آپتامر نیز برای آفلاتوکسین B_1 هدفمند نبوده و قابلیت اتصال به آن و آزادسازی نانوذرات طلا را ندارد (شکل 3).

آفلاتوکسین B_2

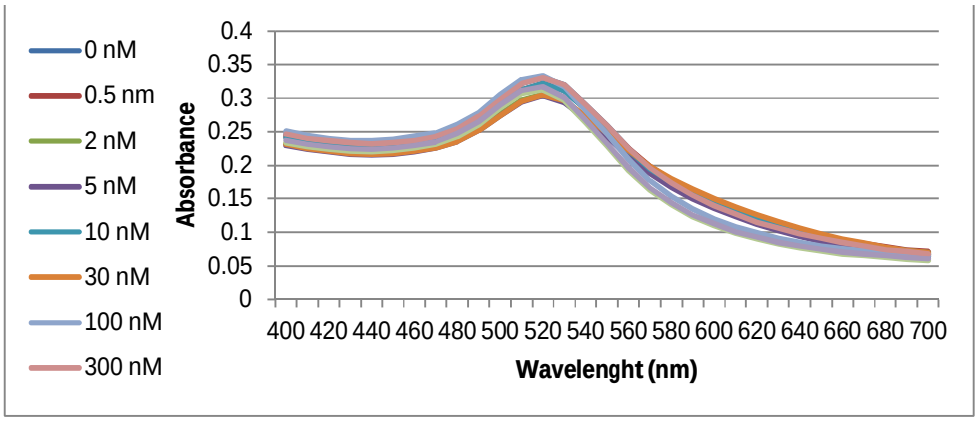
همانطور که در شکل 4 نیز دیده می‌شود نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B_2 هم نتوانستند با آپتامر مد نظر اتصال برقرار کنند و در نتیجه ذرات طلای سوسپانسیون شده به‌صورت مجتمع در نیامده و

جذب دیگری را پس از 520 نانومتر نشان ندادند. از این‌رو این آپتامر نیز برای شناسایی آفلاتوکسین B_2 اختصاصی و مناسب نبود.

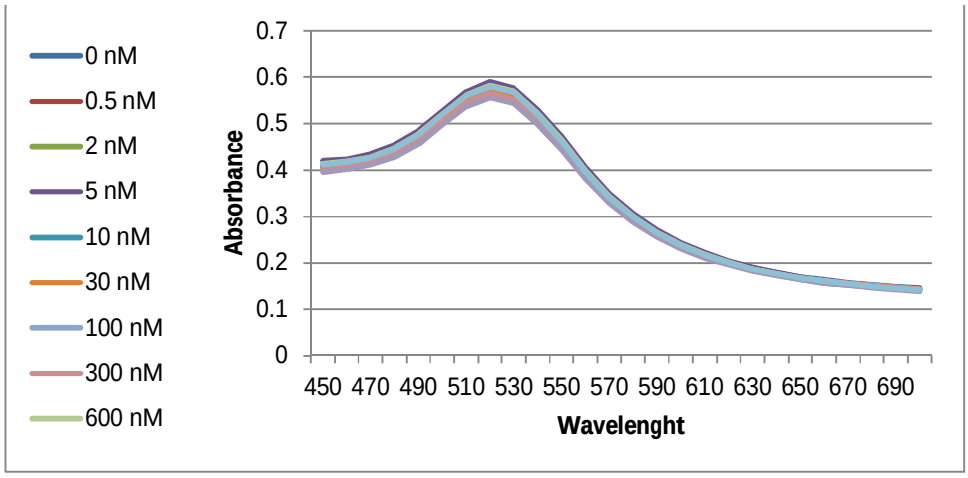
در شکل 5 نیز می‌توان به وضوح تغییر رنگ نمونه های حاوی آفلاتوکسین G_1 را پس از لینک شدن با آپتامر ملاحظه نمود که برای سایر آفلاتوکسین‌ها این تغییر رنگ دیده نمی‌شود.



شکل 2- نمودار شدت جذب برای نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین G_2



شکل 3- نمودار شدت جذب برای نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B_1



شکل 4- نمودار شدت جذب برای نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B_2

شکل 5- تفاوت تغییر رنگ نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین G1 (چپ) با سایرنمونه‌ها (راست)

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی اساس این تشخیص تمایل بالای آپتامر مذکور برای اتصال به آفلاتوکسین مناسب و در نتیجه جدا شدن از نانوذرات طلا بود که منجر شد نانوذرات طلا پس از جدا شدن تجمع یافته و با تغییر رنگ از قرمز به بنفش در طول موج دیگری جذب بالایی را نشان دهند. در این تحقیق تمایل اتصال این آپتامر در حضور نانوذرات طلا فقط برای آفلاتوکسین G_1 نشان داده شد و این آپتامر توانایی اتصال به سایر آفلاتوکسین ها یعنی G_2، B_1 و B_2 در حضور نانوذرات را نداشت. این آپتاسنسور توانایی کاربرد تشخیصی را برای موارد مختلفی مانند وجود آفلاتوکسین در غلات و دانه های روغنی دارد

منابع

Akbari, B Pirhadi Tavandashti, A and Zandrahimi, M. 2011. Particle Size Characterization of Nanoparticles- a Practical Application", *Iranian Journal of Materials Science & Engineering*, 8 (2): 48-56.

Alex P. Wacoo, Deborah Wendiro, Peter C. Vuzi, and Joseph F. Hawumba. 2014. Methods for Detection of Aflatoxins in Agricultural Food Crops. *Journal of Applied Chemistry* Volume 2014, Article ID 706291, 1-15

Amini A., Afzali-Grooh D., Chamsaz M. 2014. Determination of Aflatoxins B1 and B2 in Powdered Milk Using Modified Liquid Chromatography Method, 21 (4): 321-331.

Blank M, Blind M. 2005. Aptamers as tools for target validation. *Current Opinion in Chemical Biology*. 9(4):336-42.

Chen A, Liu J, Guan Z, LV Z, Jiang X, Yang S. 2014. Improving sensitivity of gold nanoparticle based fluorescence quenching and colorimetric aptasensor by using water resuspended gold nanoparticle. *Biosensors and Bioelectronics* 52 (15), 265-270.

Davis KA, Abrams B, Lin Y, Jayasena SD. 1996. Use of a high affinity DNA ligand in flow cytometry. *Nucleic Acids Research*. 24(4):702-6.

El-Sayed M.A. 2001. Some Interesting Properties of Metals Confined in Time and Nanometer Space of Different Shapes. Acc. Chem. Res., 34 (4), pp 257–264.

Freund, P. L., Spiro, M. (1986). J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1, 82, 2277.

Gopinath SCB. 2007. Methods developed for SELEX. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*.387(1):171-82.

Hermann T, Patel DJ. 2000. Adaptive recognition by nucleic acid aptamers. *Science*. ;287(5454):820

Hicke BJ, Stephens AW, Gould T, Chang Y-F, Lynott CK, Heil J, et al. 2006. Tumor Targeting by an Aptamer. *J Nucl Med*. 2006 1, 47(4):668-78.

Hirsch, L. R., Stafford, R. J., Bankson, J. A., Sershen, S. R., Rivera, B., Rrice, R. E., Hazle, J. D., Halas, N. J. West, J. L. 2003. Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance. Proc. *Natl. Acad. Sci*, 100(23):13549-54.

Link S and El-Sayed M.A. 1999. Spectral Properties and Relaxation Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver Nanodots and Nanorods. *J. Phys. Chem*. B 103, 8410-8426.

Mirkin CA, Letsinger RL, Mucic RC, Storhoff JJ. 1996. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic material. *J. Nature*, 382(6592):607-9.

Ohuchi SP, Ohtsu T, Nakamura Y. 2006. Selection of RNA aptamers against recombinant transforming growth factor-[beta] type III receptor displayed on cell surface. *Biochimie*. 88(7): 897-904.

Pan, Y et al, 2007. Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles. *Small*, 3 (11): 1941-1949.

Que-Gewirth NS, Sullenger BA. 2007. Gene therapy progress and prospects: RNA aptamers. *Gene Therapy*, 14(4):283-91.

Shankar, S.S, Rai, A, Ahmad, A. Sastry, M. 2004. Rapid synthesis of Au, Ag and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticle using neem (Azadirachtaindica) leaf broth",*Colloid Interface Sci*, 2004,275,496-502.

Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B. 2007. SELEX--a (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. Biomol Eng. [Review]. 24(4):381-403.

Susie Eustis. 2006. Gold and Silver Nanoparticles: Characterization of Their Interesting Optical Properties and the Mechanism of Their Photochemical Formation. thesis for the DegreeDoctor. Georgia Institute of Technology.

Thakur M.S, Shwetha N, Selvakumar L.S. 2013. Aptamer–nanoparticle-based chem luminescence for p53 p *Anal. Biochem*, 262(2):137-56.

Yguerabide J, Yguerabide E 1998. Light-scattering submicroscopic particles as highly fluorescent analogs and their use as tracer labels in clinical and biological applications. *Anal. Biochem*, 262(2):137-56.

Zhou L, Wang MH, Wang JP, Ye ZZ. 2011. Application of Biosensor Surface Immobilization Methods for Aptamer. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 39(3):432-8.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 433-439

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 439-433

Proprietary diagnosis of aflatoxin G_1 based on aptasensor colorimetry using gold nanoparticles Suspension

A. Hashemnia[1], V. Hakimzadeh[2*]

Received: 2018.02.10
Accepted: 2019.04.06

Introduction: When the size of a material is reduced to the nanometer length scale, the electron properties and therefore its chemical properties change greatly. In nanoparticles such as gold and silver, the coherent oscillation of electrons in the conduction strip creates large surface electric fields which, when they interact with electromagnetic resonance radiation, their radiant properties rises sharply. This process causes the absorption process of these nanoparticles to be several times stronger than the absorption process of the strongest adsorbent molecules and their scattered light is several times more intense than the organic materials fluorescence. These unique properties provide a high potential for these nanoparticles to be used in many applications such as biochemical sensors, biomedical imaging and medical treatments. Aptamers are single-stranded oligonucleotides, DNA, RNA or proprietary proteins that have the ability to attach specifically to their target. The basis for identifying the target by aptamers is the third structure formed by them. One of the important benefits of aptamers to antibodies is their smaller size, which makes them more easily and effectively penetrated. It also has neither toxicity nor immunogenicity unless in very low levels. Therefore, biosensors that use aptamers as biological identifiers are known as aptasensors. In this research, due to the high losses caused by aflatoxins to the crops and their toxicity, the rapid detection of these pesticides by aptasensor method was investigated.

Materials and methods: The test was carried out in a 96-well plate and for each concentration three replicates were considered. In each test, 100 µl of the nano gold solution, which was centrifuged twice at 12000 rpm and at room temperature, was thrown into 11 concentrations and three repetitions in the plate houses. Then adding 15 µlit of aptamer at a concentration of 5 µmol plus 10 µlit of distilled ultrapure water to the houses and incubate for 30 minutes at room temperature. After this time, 25 µlit of different concentrations of aflatoxin plus 15 µlit of 2 molar salt solutions and 35 µlit of distilled water were added to the houses and, after mixing (up and down) in the ELISA reader, absorbed it we read.

Results and discussions: At first, with adding the aptamer to Nano gold particles a complex between nanoparticles and aptamer is created. But in present of suitable aflatoxin, the complex of nanoparticle and aptamer is separated and a new complex between aflatoxin and nanoparticle is formed. Subsequently the color is changed to purple. This color change is visible to the eye, indicating that the Aptamer is suitable for Target. In this study, it was found that an aptamer with GTTGGGCACGTGTTGTCTCTCTGTGTCTCGTGCCCTTCGCTAGGCCCACA sequence only affects aflatoxin G1 and other aflatoxins such as B1, B2, and G2 should be considered as another sequencer for Aptamer.

Keyword: Aptamer, Aflatoxin, Biosensors, Gold nanoparticles, Suspensions.

1 and 2. Department of food science and technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
(*- Corresponding Author Email: v.hakimzadeh@yahoo.com)

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 441-452

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 452-441

تاثیر چندگونه مخمر بر کاهش آفلاتوکسین B_1 *آسپرژیلوس فلاووس* در مدل شبیه‌سازی شده معده انسان

سحر بهرام‌وند[1]- صدیقه محمدی[2]*

تاریخ دریافت: 1397/05/23
تاریخ پذیرش: 1397/12/25

چکیده

آفلاتوکسین B1 یکی از متابولیت‌های ثانویه گونه‌های خاصی از قارچ آسپرژیلوس است که بسیار سرطان‌زاست. اخیراً استفاده از میکروارگانیسم‌ها جهت کاهش جذب مایکوتوکسین‌ها در دستگاه گوارش افزایش یافته است؛ لذا در این پژوهش اثر سه گونه مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*، *پیچیا فرمنتانس* و *رودوتورولا موسیلاژینوزا* بر کاهش آفلاتوکسین B1 در محیط شبیه‌سازی شده معده مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* از دانه ذرت جداسازی و خالص‌سازی شد. سپس تولید توکسین در محیط کشت PDB زیر نور UV با تابش فلورسانس آبی تأیید شد. توکسین به روش حلالیت در کلروفرم استخراج و تزریق گردید و غلظت آن توسط دستگاه HPLC، 0/49 ng/ml تعیین شد. محیط معده به غلظت‌های تهیه شده از سم 0/1 میلی‌لیتر از آفلاتوکسین B1 در غلظت‌های 0/25 و 0/5 نانوگرم در میلی‌لیتر و همچنین غلظت 0/49 نانوگرم در میلی‌لیتر سم استخراجی از جدایه آلوده گردید و سپس مخمرها اضافه و انکوباسیون شدند. سپس در زمان‌های صفر و 120 دقیقه سانتریفوژ شده و سوپرناتانت به‌دست آمده برای تعیین غلظت توکسین باقی‌مانده توسط روش الایزای رقابتی مستقیم بررسی گردید. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با آزمایش فاکتوریل انجام شد. فاکتور اول گونه مخمر(چهار سطح: سه مخمر و تیمار بدون مخمر)، فاکتور دوم غلظت (چهار سطح: صفر، 0/25، 0/50 و 0/49 نانوگرم بر میلی‌لیتر) و فاکتور سوم زمان (شامل دو سطح: صفر و 120 برای معده) بود. این آزمایش در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد هر سه مخمر نسبت به شاهد (بدون مخمر) در کاهش غلظت توکسین در معده توانایی داشتند اما تأثیر رودوتورولا موسیلاژینوزا بیشتر از سایرین بود. کمترین غلظت سم در سوپرناتانت در غلظت 25/ ng/ml نانوگرم در میلی‌لیتر مشاهده شد. همچنین با گذشت زمان غلظت توکسین در سوپرناتانت کاهش یافت. اثر متقابل گونه مخمر و غلظت توکسین نشان داد نسبت به شاهد در هر سه غلظت هر سه مخمر توانایی کاهش غلظت توکسین را داشتند. حداقل غلظت توکسین در سوپرناتانت معده در غلظت 0/25 ng/mlو گونه *رودوترولا موسیلاژینوزا* به‌دست آمد. نتایج اثر متقابل گونه مخمر و زمان نشان داد در هر دو زمان، هر سه مخمر توانایی کاهش غلظت توکسین در سوپرناتانت را داشتند و حداقل غلظت توکسین در سوپرناتانت در زمان 120 دقیقه و برای گونه *رودوترولا موسیلاژینوزا* مشاهده شد. نتایج اثر متقابل زمان و غلظت نشان داد در غلظت 0/25 ng/ml غلظت توکسین در سوپرناتانت در 120 دقیقه در کمترین حد خود بود. نتایج اثر متقابل گونه مخمر، زمان و غلظت توکسین مشخص کرد کمترین غلظت توکسین در سوپرناتانت مربوط به تیمار مخمر *رودوترولا موسیلاژینوزا* در زمان 120 دقیقه و غلظت 0/25 ng/ml بود. در مجموع، نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر نشان داد هر سه گونه مخمر توانایی کاهش آفلاتوکسین B1 را در محیط معده داشتند اما مخمر *رودوترولا موسیلاژینوزا* را می‌توان به‌عنوان موثرترین (کارآمدترین) جدایه در بیوکنترل آفلاتوکسین B1 معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: *آسپرژیلوس فلاووس*، آفلاتوکسین B1، مخمر، محیط شبیه‌سازی شده معده

مقدمه

گونه‌های جنس آسپرژیلوس[3] طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه تولید می‌کنند. بعضی از این ترکیبات خواص بیولوژیکی مفیدی دارند، از قبیل آنتی‌بیوتیک یا آنتی‌کلسترمیک، در حالی که بقیه زیان‌آور هستند، مانند مایکوتوکسین‌ها که ممکن است سمی، موتاژنیک یا کارسینوژنیک باشند (Zhuang *et al*., 2016). *آسپرژیلوس فلاووس* یک قارچ ساپروفیت و رشته‌ای است که اغلب دانه‌های خوراکی و دانه‌های روغنی محصولات مختلف را با تولید مایکوتوکسین‌هایی از قبیل سیکلوپیازونیک اسید، آفلاترم[4] و معروفترین آن‌ها آفلاتوکسین، آلوده می‌کند (Wang *et al*., 2016).

1- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه میکروبیولوژی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.
2- استادیار، گروه بیماری‌شناسی‌گیاهی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: mohammadi.pp@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.74793

3 Aspergillus
4 Aflaterm

آفلاتوکسین‌ها از خطرناک‌ترین مایکوتوکسین‌ها می‌باشند که ممکن است در خوراک دام و مواد غذایی یافت شده و توسط گونه‌های جنس *آسپرژیلوس*، نظیر *آسپرژیلوس فلاووس*[1]، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*[2] و *آسپرژیلوس نومیوس*[3] تولید می‌شوند (کته‌شمشیری و همکاران، 1393). بیش از 20 نمونه از آفلاتوکسین‌ها شناخته شده است، و معروف ترین و مهمترین آن‌ها آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 هستند. AFB1 سمی‌ترین آن‌هاست، و با سرطان کبد و اختلال در عملکرد سیستم ایمنی بدن در ارتباط است. بنابراین، کاهش غلظت آفلاتوکسین در مواد غذایی ضروری است (Zhou *et al*., 2017). روش‌های فیزیکی مانند گرما، اشعه فرابنفش و تابش یونیزه کننده می‌باشد که اثر این روش‌ها به عوامل زیاد مانند تعداد و نوع گونه قارچی، دوز اشعه، ترکیب مواد غذایی و رطوبت هوا بستگی دارد (Jalili *et al*., 2012; Udomkun *et al*., 2017) روش‌های شیمیایی با افزودن مواد کلرینه کننده، اکسیدکننده، هیدرولیتیک صورت می‌گیرد که نیازمند تجهیزات گران بوده و ممکن است کیفیت محصول را کاهش داده و اثرات نامطلوبی بر سلامتی ایجاد کنند. همچنین محدودیت‌هایی مانند زمان طولانی تخریب (بیش از 72 ساعت)، تخریب ناقص از دیگر معایب روش‌های فیزیکی و شیمیایی است. بیشتر محققین معتقدند که بهترین روش سم‌زدایی مواد غذایی آلوده به مایکوتوکسین، استفاده از گونه‌های موثر میکروبی است که دارای خصوصیت کاهش آفلاتوکسین تحت شرایط ملایم، بدون استفاده از مواد شیمیایی مضر و از دست دادن ارزش تغذیه‌ای فراهم می‌سازد (رهایی و همکاران، 1389). در این راستا، تحقیقاتی در ارتباط با تأثیر باکتری‌های خانواده اسید لاکتیک، گونه‌های پروبیوتیک، قارچ‌های مؤثر (تریکودرما) و مخمرها (مانند *ساکارومایسس سرویزیه و رایزوپوس اولیگوسپوروس*) بر کاهش جذب افلاتوکسین انجام شده است. صاحب قلم و همکاران (1392)، در تحقیقی توانایی اتصال آفلاتوکسین به دیواره سلولی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*[4] جهت کاهش سمیت در خوراک دام را مورد بررسی قرار دادند. به این منظور آفلاتوکسین B1 در غلظت‌های صفر، 5، 10 و 20 میکروگرم بر لیتر به پنبه دانه به‌عنوان خوراک دام اضافه شد و سپس توسط مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* در فاز لگاریتمی رشد، و همچنین مخمر تیمار شده با اسید و حرارت به مدت زمان‌های صفر، 4، 12 و 24 ساعت تلقیح گردید. در میانگین غلظت‌های مختلف سم بیشترین میزان کاهش توکسین مربوط به تیمار اسیدی (3/417 نانوگرم بر میلی‌لیتر) بوده و سپس تیمار حرارتی (3/607 نانوگرم بر میلی‌لیتر) و مخمر زنده (3/96 نانوگرم بر میلی‌لیتر) بیشترین کارایی را از خود نشان دادند.

1 *Aspergillus flavus*
2 *Aspergillus parasiticus*
3 *Aspergillus nomius*
4 *Saccharomyces cerevisiae*

همچنین بیشترین میزان کاهش آفلاتوکسین بعد از چهار ساعت مشاهده شد که نشانگر سرعت عمل و اشباع شدن محل‌های اتصال بعد از این زمان بود. نتایج نشانگر این بود که سلول‌های مخمر زنده یا غیر زنده عوامل بیولوژیکی مناسبی جهت حذف آفلاتوکسین در محیط کشت آلوده هستند. کته‌شمشیری و همکاران (1393)، در تحقیقی توانایی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[5] در حذف آفلاتوکسین M1 را در مدل شبیه‌سازی شده معده بررسی کردند. بدین منظور از باکتری در دو سطح 3×10^{9} cfu/ml و 3×10^{10} جهت تعیین توانایی آن در کاهش سم استفاده شد. آفلاتوکسین M1 در غلظت‌های ppb 0/05، 0/25 و 0/5 به‌کار رفت. زمان اینکوباسیون در مدل شبیه‌سازی شده معده، صفر، 30، 60، 90 و 120 دقیقه بود. غلظت آفلاتوکسین توسط روش الایزای رقابتی تعیین شد. نتایج نشان داد حضور باکتری در سطح بالاتر (3×10^{10} cfu/ml) تاثیر بیشتری در کاهش سم داشت. همچنین درصد حذف برای غلظت‌های ppb 0/05، 0/25و 0/5 به‌ترتیب 76/09، 52/26 و 76/19 به‌دست آمد. نتایج گویای آن است که در میان غلظت‌های مختلف زمان 60 دقیقه بیشترین تاثیر را در کاهش سم داشت، به‌طوری که مقدار آفلاتوکسین باقی مانده پس از گذشت 60 دقیقه 0/08304 نانوگرم بر میلی لیتر به‌دست آمد. این در حالی است که در 120 دقیقه اینکوباسیون کمترین کاهش سم مشاهده گردید؛ به‌گونه‌ای که مقدار آفلاتوکسین باقی مانده 0/08368 نانوگرم بر میلی‌لیتر بود. اصغرنژاد و همکاران (1393)، در تحقیقی به ارزیابی تولید آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1 و G2 در چند گونه قارچ *آسپرژیلوس* در محیط کشت سیب زمینی دکستروز براث[6] و به روش HPLC پرداختند. نتایج نشان داد در در گونه *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* میزان تولید آفلاتوکسین B1 بیشترین و آفلاتوکسین G1 کمترین مقدار در بین چهار نوع آفلاتوکسین مورد آزمایش بود. بامیار و همکاران (1394)، در تحقیقی تاثیر انواع مخمر بر میزان آفلاتوکسین B1 طی فرایند تهیه نان را مورد پژوهش قرار دادند. برای این منظور ابتدا سم خشک آفلاتوکسین به آرد اضافه شد و سپس نان تهیه گردید. برای تهیه خمیر از سه نوع مخمر موجود در بازار (مخمر خشک فعال، مخمر خشک فوری و مخمرفشرده) استفاده شد. میزان سم آفلاتوکسین موجود در خمیر،در دو مرحله پروف اولیه و پروف نهایی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد بیشترین میزان کاهش آفلاتوکسین مربوط به پروف اولیه بود. همچنین مخمر خشک فوری بیشترین تاثیر را داشته، این درحالی است که مخمر فشرده کمترین میزان کاهش سم را نشان داد.

Mahesh و Devegowda (1996)، در طی مطالعه‌ای در شرایط آزمایشگاهی مشاهده کردند که افزودن 0/05% مانوالیگوساکارید

5 *Lactobacillus acidophilus*
6 Potato dextrose broth

(استخراج شده از دیواره سلولی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه)* به خوراک آلوده با 200 میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین، 79% سم موجود را به خود متصل کرد. El-Nezami و همکاران (2000)، نشان دادند کاهش آفلاتوکسین B1 در حضور *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* زیرگونه‌ی GG در بافت روده در مدت 60 دقیقه، 74 درصد بود. آن‌ها همچنین (1998) عنوان نمودند کشت 24 ساعت *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* زیرگونه GG و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* زیر گونه LC-705 قادر به جذب 80 درصد آفلاتوکسین B1 می‌باشد. همچنین مطالعات آن‌ها نشان داد مقدار آفلاتوکسین B1 حذف شده با افزایش غلظت سم، افزایش پیدا کرد اما درصد حذف از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. بر اساس مطالعات Shetty و همکاران (2006)، پدیده اتصال آفلاتوکسین یک پدیده فیزیکی بوده که در سطح مخمر یعنی در دیواره سلولی آن اتفاق می‌افتد. آن‌ها مشاهده کردند که 75% قدرت اتصال مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* مربوط به مواد استخراج شده از دیواره سلولی بوده و زمانی که الیگوساکارید مانان تغییر یافته از دیواره مخمر مشتق می‌شود این مقدار به 95% می‌رسد. آن‌ها اظهار کردند که مطالعات اخیر بیانگر این است که قسمت پلی ساکاریدی دیواره سلولی در اتصال سطحی آفلاتوکسین در گونه مخمر موثر واقع می‌شود. Moreira da silva و همکاران (2015)، در تحقیقی از پروبیوتیک‌ها جهت کنترل تولید آفلاتوکسین در دانه‌های بادام استفاده کردند. در این تحقیق از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک شامل *ساکارومایسس سرویزیه* واریته *بولاردی*[1] ، *ساکارومایسس سرویزیه* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی*[2] به تنهایی و یا در ترکیب با هم استفاده شد. همه میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در شکل زنده و غیرفعال به‌طور چشم گیری اسپورزایی *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* را کاهش دادند، ولی بهترین نتیجه از سلول‌های زنده به‌دست آمد. تیمارهایی که به تنهایی تلقیح شدند کاهش در تولید آفلاتوکسین به‌ترتیب 72/8% و 65/8% برای *ساکارومایسس بولاردی* و *ساکارومایسس سرویزیه* بود. هنگامی که میکروارگانسیم‌های فوق در ترکیب دوتایی با هم تلقیح شدند، بهترین نتیجه در کاهش آفلاتوکسین از ترکیب *ساکارومایسس بولاردی* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* به دست آمد. Magnoli و همکاران (2017)، در تحقیقی استفاده از مخمر *پیچیا کودری آوزویی*[3] را به‌عنوان یک افزودنی غذایی جدید برای بهبود اثرات آفلاتوکسین B1 بر روی عملکرد جوجه مرغ‌ها بررسی کردند. هدف از این مطالعه بررسی اثر بخشی این مخمر به عنوان یک جاذب زیستی جدید برای آفلاتوکسین B1 بود. انتخاب این مخمر بر اساس ظرفیت جذب آفلاتوکسین B1 که قبلا در شرایط آزمایشگاهی ثابت شده، بود. این آزمایش نشان داد که تلقیح این مخمر بومی (0/1%) به جیره غذایی حاوی آفلاتوکسین B1 جوجه‌ها، در بهبود اثرات نامطلوب آفلاتوکسین B1 بر تولید، موثر نشان داده شد. در همین راستا تحقیق حاضر به هدف تعیین تأثیر مخمرهای *پیچیا فرمنتانس*[4]، *رودوتورولا موسیلاژینوزا*[5] و *ساکارومایسس سرویزیه*[6] بر کاهش آفلاتوکسین B1 قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* در مدل شبیه‌سازی شده معده مورد بررسی قرار گرفت.

1 *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*
2 *Lactobacillus delbrueckii*
3 *Pichia kudriavzevii*

مواد و روش‌ها

این پژوهش از فروردین الی مهرماه 1396 صورت گرفت. نمونه گیری از ذرت‌های مشکوک به *آسپرژیلوس فلاوس* به‌صورت تصادفی از چند سیلوی در سه شهرستان شیراز، مرودشت و آباده در دو نوبت نمونه گیری گردید.

جداسازی، خالص سازی و شناسایی

برای این منظور از روش Thathana و همکاران (2017) استفاده شد. نمونه‌های ذرت به‌منظور جداسازی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* بر روی محیط سابورو دکستروز آگار[7] کشت داده شدند. سپس قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* رشد یافته در اطراف دانه‌های ذرت، توسط سوزن کشت استریل بر روی محیط کشت‌های دکستروز آگار سیب زمینی کشت داده شدند. به منظور خالص سازی جدایه‌ها از روش نوک ریسه‌گیری[8] بر روی محیط آب-آگار استفاده شد (Selma *et al*., 2008). به‌منظور شناسایی قارچ از روش اسلاید کالچر استفاده شد و ساختارهای هیف، کنیدیوفور، متولا، فیالید و کنیدیوم بررسی شد (Hibbett *et al*., 2007).

تولید آفلاتوکسین B1 در جدایه ها

به‌منظور تولید آفلاتوکسین با استفاده از تیغ استریل، قطعه‌ای از قارچ‌های رشدیافته بر روی محیط سیب زمینی دکستروز آگار[9] به ابعاد 5 میلی‌متر در پنج میلی‌متر و قطر تقریبی 5 میلی‌متر در 100 میلی‌لیتر محیط کشت مایع سیب زمینی دکستروز براث (PDB 100 ml) کشت داده شدند. محیط‌های مایه‌زنی شده در محیط تاریک و دمای اتاق (25 درجه سلسیوس) به‌صورت ساکن نگهداری شدند. پس از گذشت 22 روز از کشت، به‌منظور آزمایش تولید یا عدم تولید آفلاتوکسین، استخراج آفلاتوکسین به روش حلالیت در کلروفرم انجام شد (اصغرنژاد و همکاران، 1393).

4 *pichia fermantans*
5 *Rhodotorulamucilaginosa*
6 *Saccharomyces cerevisiae*
5 Sabouraud 4% dextrose agar (SDA)
6 Hyphal tip
7 Potato Dextrose Agar (PDA)

آزمایش با اشعه UV

نمونه استخراج شده از محیط کشت مایع سیب‌زمینی دکستروز که قارچ در آن رشد کرده بود، جهت ارزیابی اولیه زیر نور UV، با طول موج 365 نانومتر قرار داده شد. نمونه از نظر تابش فلوئورسنت آبی آزمایش شد. وجود آفلاتوکسین B1 در نمونه با تابش فلورسانس آبی مشخص شد (تاتانا و همکاران، 2017).

استخراج آفلاتوکسین B1 از جدایه‌ها

به‌منظور استخراج آفلاتوکسین B1، محیط کشت مایع 22 روزه از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد و سپس 10 میلی‌لیتر کلروفرم به 25 میلی‌لیتر از مایع صاف شده محیط کشت اضافه شد و درون قیف دکانتور ریخته شد (فردوس و همکاران، 2009). پس از مخلوط شدن به مدت 20 دقیقه قیف دکانتور به‌طور منظم به‌هم زده شد. بعد از گذشت مدت زمان 20 دقیقه فاز زیرین که حاوی آفلاتوکسین بود جدا شد. فاز رویی دور ریخته شد. به‌منظور تبخیر حلال، در دمای 45 درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از تبخیر حلال، رسوب حاصله در 3 میلی‌لیتر متانول حل و از فیلتر سر سرنگی 0/22 میکرومتری عبور داده شد(عباس و همکاران، 2006). محلول حاصل به دستگاه HPLC (Agilent) سری 1200 با دتکتور فلورسانس تزریق شد پس از آنالیز نمونه توسط دستگاه HPLC، وجود آفلاتوکسین B1 در نمونه تایید گردید. به‌منظور شناسایی توکسین‌های قارچی، بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره 6872 از طریق کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام شد. نمونه‌های استخراج شده از قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* به دستگاه HPLC با ستون(ZORBAX Eclipse-XDB, C18، آجیلنت، آمریکا) تزریق شد. شرایط کار با دستگاه HPLC به شرح زیر بود:

فاز متحرک: آب- استونیتریل (25:75 v/v)

فاز ساکن: ستون C18 (150 mm×4.6 mm, 5 µm)

آشکارساز فلورسانس: طول موج برانگیختگی 365 nm و طول موج نشر 435 nm

سرعت جریان 0/8 mL/min و در این شرایط زمان بازداری 7-8 دقیقه مشاهده گردید.

آماده‌سازی کشت مخمرها

مخمرهای *پیچیا فرمنتانس*[1] (PTCC 5296)، *رودوتورولا موسیلاژینوزا* سوش *موسیلاژینوزا*[2] (PTCC 5257) و *ساکارومایسس سرویزیه*[3] (PTCC 5269) از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌ها تهیه گردید. هر سه گونه مخمر در محیط کشت Yeast Mold Broth در دمای 25 درجه سلسیوس به مدت یک هفته گرمخانه‌گذاری گردیدند (رهایی و همکاران،2010). پس از یک هفته، به‌منظور شمارش مخمرها از روش تهیه رقت استفاده گردید. شمارش مخمرها به روش شمارش بر روی محیط کشت انجام گردید. از روش شمارش و تکثیر با جذب نوری به دلیل اینکه مخمرهای مرده نیز محاسبه می‌شود استفاده نگردید. در روش شمارش بر روی محیط کشت پس از کشت مخمرها درون محیط کشت پلیت کانت آگار پس از مدت زمان‌های 24، 48 و 72 با تهیه رقت از محیط مخمرها به روش استاندارد پلیت کانت ارزیابی شد. بدین منظور 10 عدد لولهی آزمایش حاوی 9 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل گردید. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون مخمر به لوله شماره یک منتقل گردید. سپس یک میلی‌لیتر از لوله شماره یک به لوله بعدی منتقل گردید و تا به‌دست آمدن رقت 2×10^{10} تکرار شد. سپس از هر لوله 0/1 میلی‌لیتر به محیط کشت جامد پلیت کانت آگار منتقل گردید. پس از رشد، کلنی‌ها شمارش گردیدند و غلظت CFU/ml 2×10^{10} تعیین گردید (Lehmann *et al.*, 1991).

آماده‌سازی محیط شبیه‌سازی شده معده

به‌منظور آماده‌سازی محیط شبیه‌سازی شده معده، ابتدا محلول اسید کلریدریک 0/08 مولار تهیه گردید. پس از آن محلول کلرید سدیم با غلظت 0/2 درصد تهیه گردید. دو محلول تهیه شده با یکدیگر ترکیب شدند و در مرحله آخر pH محیط با سود نرمال و اسید نرمال و با استفاده از دستگاه pHمتر حدود 1/5 تنظیم گردید (کته شمشیری و همکاران، 1393). محلول حاصل توسط ست فیلتراسیون با مکش پمپ خلاء با فیلتر 0/22 میکرومتری استریل گردید.

آلوده‌سازی محیط معده به آفلاتوکسین B1

محلول آفلاتوکسین B1 با غلظت 100 نانوگرم در میلی‌لیتر از شرکت کیمیاگران شیمی صنعت خریداری گردید. از محلول استوک اصلی محلول های استوک ثانویه آفلاتوکسین B1 در غلظت‌های صفر (شاهد)، 0/25 و 0/5 نانوگرم در میلی‌لیتر تهیه گردیدند. سپس 0/1 میلی‌لیتر از آفلاتوکسین B1 با غلظت‌های 0/25 و 0/5 نانوگرم در میلی لیتر (Masoero *et al.*, 2009) و همچنین غلظت 0/49 نانوگرم در میلی‌لیتر آفلاتوکسین استخراجی از گونه *آسپرژیلوس فلاووس* به محیط شبیه‌سازی شده معده اضافه گردید. سپس در اینکوباسیون در دمای 37 درجه سلسیوس نگهداری شد.

4- *Pichia fermentans*
5- *Rhodotorula mucilaginosa* var. *mucilaginosa*
6- *Saccharomyces cerevisiae*

افزودن مخمرها به محیط شبیه‌سازی شده معده آلوده به آفلاتوکسین

یک سی‌سی از سوسپانسیون سه مخمر به‌طور کامل در 9 سی‌سی شیره شبیه‌سازی شده معده آلوده به آفلاتوکسین B1 (با غلظت‌های صفر، 0/25، 0/5 و 0/49 نانوگرم در میلی‌لیتر و حداکثر غلظت استخراجی جدایه) اضافه گردید. در تیمارهای بدون مخمر یک سی‌سی آب مقطر استریل به محیط شبیه‌سازی شده معده اضافه گردید. اینکوباسیون در دمای 37 درجه سلسیوس به مدت زمان‌های صفر و 120 دقیقه برای معده انجام گردید. پس از نمونه‌برداری در زمان‌های صفر و 120 دقیقه برای معده، نمونه‌ها در 7500 rpm به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ شدند. در نهایت سوپرناتانت جداسازی و در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری گردید (کته‌شمشیری و همکاران، 1393).

اندازه‌گیری میزان افلاتوکسین B1 باقی‌مانده در سوپرناتانت با استفاده از الایزا

میزان آفلاتوکسین B1 باقی‌مانده در نمونه‌های سوپرناتانت با استفاده از روش الایزا محاسبه شد. مراحل کلی آزمون الایزا طبق دستورالعمل کیت الایزای خریداری شده از شرکت ایست‌بیوفارم با مشخصه CK-E91237 انجام شد. طبق دستورالعمل این کیت روش به‌کار رفته بر پایه الایزای رقابتی مستقیم است. این روش یک ایمونواسی آنزیم رقابتی و بر پایه واکنش آنتی‌ژن آنتی بادی است. طبق دستورالعمل، چاهک‌ها با آنتی بادی بر علیه آفلاتوکسین B1 استاندارد یا نمونه‌های مورد بررسی، پوشانده شدند. با اضافه کردن آفلاتوکسین B1 استاندارد (کنترل) یا نمونه، آنتی بادی‌ها به‌طور نسبی بر اساس غلظت آفلاتوکسین موجود به آن متصل شدند.

آنتی بادی‌های آزاد در مرحله بعد به‌وسیله توکسین نشان‌دار شده با آنزیم کونژوگه متصل شدند. سپس سوبسترای آنزیم کروموژن به چاهک‌ها اضافه گردید. واکنش پس از طی دوره اینکوباسیون و پس از تغییر رنگ از آبی به زرد در دستگاه الایزا ریدر در طول موج 450 nm، با اضافه کردن ترکیب متوقف کننده خاتمه یافت. پس از رسم منحنی استاندارد آفلاتوکسین B1، نتایج حاصل از اندازه‌گیری باقیمانده سم در نمونه‌های مورد بررسی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. میزان جذب نسبت معکوسی با غلظت آفلاتوکسین در نمونه دارد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این آزمایش‌ها به‌صورت طرح پایه کاملا تصادفی در قالب فاکتوریل با سه فاکتور در مدل شبیه‌سازی شده معده به شرح ذیل با سه تکرار انجام گردید:

فاکتور A گونه مخمر در چهار سطح شامل: 1- بدون مخمر(شاهد)، 2- *پیچیا فرمنتانس*، 3- *رودوترولا موسیلاژینوزا*، 4- *ساکارومایسس سرویزیه*.

فاکتور B شامل غلظت آفلاتوکسین B1 در چهار سطح: 1- صفر (شاهد)، 2- 0/25 نانوگرم در میلی لیتر استاندارد، 3- 0/5 نانوگرم در میلی‌لیتر استاندارد، 4- 0/49 نانوگرم در میلی‌لیتر (سم استخراجی).

فاکتور C شامل زمان اثر مخمرها در دو سطح:1- زمان صفر، 2- زمان 120 دقیقه.

در نهایت داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS ver 9.0 تجزیه و تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن و رسم نمودارها با استفاده از برنامه اکسل انجام شد.

نتایج و بحث

آفلاتوکسین‌ها از خطرناک‌ترین مایکوتوکسین‌های موجود در مواد غذایی میباشند که توسط گونه‌های جنس آسپرژیلوس تولید می‌شوند (کته‌شمشیری و همکاران، 1393). آفلاتوکسین B1 سمی‌ترین آن‌هاست بنابراین، کاهش غلظت آن در مواد غذایی ضروری است (ژو و همکاران، 2017). اخیرا استفاده از میکروارگانیسم‌ها جهت کاهش جذب مایکوتوکسین‌ها در دستگاه گوارش افزایش یافته است. دیواره سلولی مخمرها حاوی پلی‌ساکاریدهایی نظیر گلوکان و مانان بوده که مکانیسم‌های مختلف (پیوند یونی، هیدروژنی و هیدروفوبی) پیوند با توکسین را فراهم می‌کند (رهایی و همکاران، 1389؛ کته‌شمشیری و همکاران، 1393).

تعیین میزان توکسین استخراجی از قارچ

خاصیت توکسین‌زایی قارچ تحت اشعه فرابنفش و ایجاد فلورسانس آبی مشخص شد. همچنین با تزریق نمونه استخراج شده از قارچ به دستگاه HPLC نیز وجود آفلاتوکسین B1 در نمونه تایید و غلظت آن 49 نانوگرم در میلی‌لیتر مشخص شد.

تأثیر سه گونه مخمر بر کاهش جذب آفلاتوکسین B1 در مدل شبیه‌سازی شده معده

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر مخمرهای مختلف بر کاهش غلظت توکسین نشان داد اختلاف بین تیمارهای اثر مستقل گونه مخمر، زمان و غلظت و کلیه اثرات متقابل دوگانه و سه گانه آن‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر مستقل گونه مخمر مشخص شد هر سه مخمر نسبت به شاهد (بدون استفاده از مخمر) در کاهش غلظت افلاتوکسین توانایی داشتند. از بین این سه گونه تأثیر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* در کاهش غلظت افلاتوکسین بیشتر از سایرین بود (شکل 1).

دلیل اینکه هر سه مخمر استفاده شده نسبت به شاهد (بدون استفاده از مخمر) در کاهش غلظت افلاتوکسین B1 توانایی داشتند، توانایی اتصال دیواره سلولی مخمر به افلاتوکسین بوده است. Mahesh و Devegowda (1996)، در طی مطالعه‌ای در شرایط *in vitro* مشاهده کردند که افزودن 0/05% مانوالیگوساکارید (استخراج شده از دیواره سلولی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*) به خوراک آلوده با 200 میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین، 79% سم موجود را به‌خود متصل کرد.

شکل 1- مقایسه میانگین اثر مستقل گونه مخمر بر کاهش غلظت آفلاتوکسین در مدل شبیه‌سازی شده معده بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن

بر اساس بررسی‌ها دیواره سلولی شبکه‌ای از بتا 1و 3 گلوکان با زنجیره‌های جانبی بتا 1 و 6 گلوکان است که مانو پروتئین‌ها به‌وسیله پیوند کووالانسی به لایه داخلی گلوکان متصل شده‌اند و دارای مقدار اندکی کیتین می‌باشند. بر اساس مطالعات شتی و همکاران (2006)، پدیده اتصال آفلاتوکسین یک پدیده فیزیکی بوده که در سطح مخمر یعنی در قسمت پلی‌ساکاریدی دیواره سلولی آن اتفاق می‌افتد. آن‌ها مشاهده کردند که 75% قدرت اتصال مخمر مربوط به مواد استخراج شده از دیواره سلولی بوده و زمانی که الیگوساکارید-مانان تغییر یافته از دیواره مخمر مشتق می‌شود این مقدار به 95% می‌رسد. طبق نتایج تحقیق ژو و همکاران (2017) نیز، مشاهده شد که اتصال، عمده‌ترین دلیل حذف آفلاتوکسین B1 توسط *زیگوساکارومایسس روکسی* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در تخمیر مایع بود. میزان آفلاتوکسین باند شده توسط این دو میکروارگانیسم بیشتر از 50 درصد بود. این بررسی نشان داد که بجای تجزیه در تخمیر مایع، سلول‌های این دو مخمر فقط توانستند آفلاتوکسین را به‌وسیله اتصال حذف نمایند. بر اساس پژوهشی از مگنولی و همکاران (2017)، مشخص شد که استفاده از مخمر *Pichia kudriavzevii* به‌عنوان یک افزودنی غذایی و یک جاذب زیستی جدید برای کاهش اثرات آفلاتوکسین B1 بر روی عملکرد جوجه مرغ‌ها موثر است.

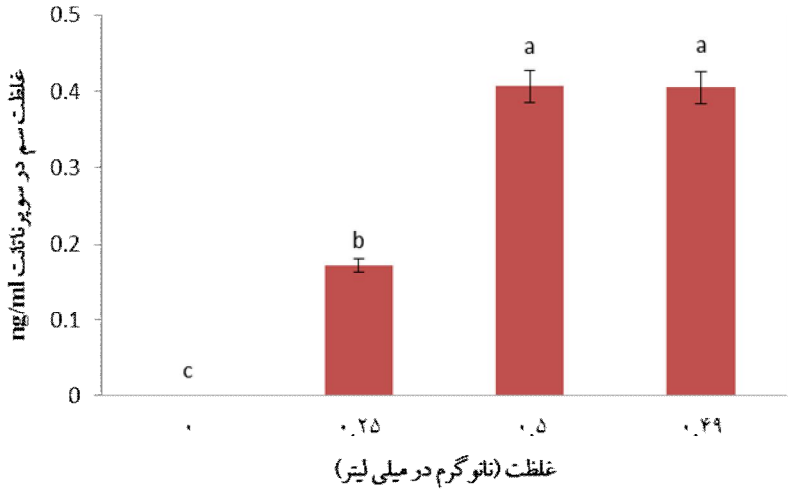
نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر مستقل غلظت (شکل 2) مشخص کرد نسبت به شاهد (عدم کاربرد توکسین) بیشترین غلظت توکسین در سوپرناتانت در تیمارهای غلظت 0/49 و 0/5 نانوگرم در میلی لیتر بود که تفاوت آماری با یکدیگر نداشتند و همانگونه که انتظار می رفت کمترین غلظت سم در سوپرناتانت در غلظت 0/25 نانوگرم در میلی‌لیتر مشاهده شد.

در پژوهش حاضر مشخص شد که در غلظت 0/25 نانوگرم بر میلی لیتر مقدار حذف آفلاتوکسین B1 کمتر از دو غلظت دیگر بود اما در غلظت‌های 0/49 و 0/5 نانوگرم در میلی‌لیتر مقدار حذف آفلاتوکسین افزایش یافت که با نتایج ال-نظامی و همکاران (1998) که نشان دادند مقدار آفلاتوکسین B1 حذف شده با افزایش غلظت سم، افزایش درصد اتصال نسبتا مشابهی حاصل می‌گردد، مطابقت داشت.

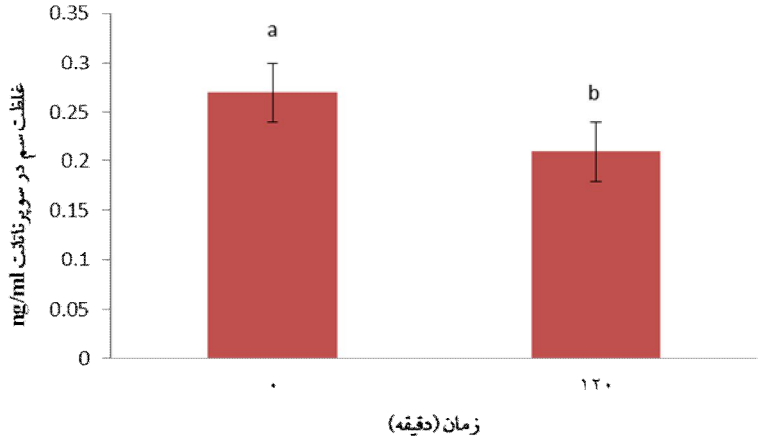
نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر مستقل زمان (شکل 3) مشخص کرد با گذشت زمان غلظت توکسین در سوپرناتانت کاهش یافت. غلظت توکسین در 120 دقیقه کمتر از زمان صفر بود. در همین راستا کته‌شمشیری و همکاران (1393) با بررسی توانایی *Lactobacillus acidophilus* در حذف آفلاتوکسین M1 را در مدل شبیه‌سازی شده معده گزارش کردند به‌نظر می‌رسد که علت این کاهش می‌تواند باز شدن اتصال میان توکسین و دیواره سلولی باکتری در طول زمان باشد

El-khoury و همکاران (2011) مشخص نمودند توانایی اتصال *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* به آفلاتوکسین M1 از دو ساعت تا 14

ساعت، تا 70 درصد افزایش یافت. این در حالی است که در پژوهش حاضر نیز بعد از 120 دقیقه در محیط معده غلظت آفلاتوکسین B1 کاهش یافت و مخمرها قادر بودند غلظت توکسین را به مقدار بیشتری کاهش دهند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل گونه مخمر و غلظت توکسین (جدول 2) نشان داد نسبت به شاهد در هر سه غلظت هر سه مخمر توانایی کاهش غلظت توکسین را داشتند. حداقل غلظت توکسین در سوپرناتانت در غلظت 0/25 نانوگرم در میلی لیتر و گونه *رودوتورولا موسیلاژینوزا* و پس از آن تیمارهای دو گونه مخمر دیگر در همین غلظت مشاهده شد. در دو غلظت 0/49 و 0/5 نیز *رودوتورولا موسیلاژینوزا* توانایی بیشتری در کاهش غلظت توکسین در سوپرناتانت را داشت.



شکل 2- مقایسه میانگین اثر مستقل غلظت توکسین بر کاهش غلظت افلاتوکسین در مدل شبیه‌سازی شده معده بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن



شکل 3- مقایسه میانگین اثر مستقل زمان بر کاهش غلظت افلاتوکسین در مدل شبیه‌سازی شده معده بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن

در تحقیق حاضر تاثیر سه گونه مخمر بر کاهش میزان آفلاتوکسین B1 بررسی شد که بر اساس نتایج مشخص شد که از میان سه مخمر توانایی *رودوتورولا موسیلاژینوزا* در کاهش غلظت آفلاتوکسین B1 و در غلظت‌های 0/49 و 0/5 نانوگرم بر میلی لیتر بیشتر از سایرین بود. مطابق با نتایج حاصل از این پژوهش، در پژوهش کته شمشیری و همکاران (1393) نیز، مشخص شد که در محیط شبیه سازی شده‌ی معده کمترین میزان باقیمانده آفلاتوکسین در حضور باکتری و غلظت پایین سم (0/05 ppb) مشاهده شد که با

نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. Kabak و همکاران (2009) نیز، تاثیر تعدادی باکتری پروبیوتیک را بر کاهش میزان آفلاتوکسین و اکراتوکسین در دو نمونه غذای کودک مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که در نمونه اول که با 1/76 ppb آفلاتوکسین B1 و 3/2 ppb اکراتوکسین آلوده شده بود، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیشترین قابلیت را در کاهش میزان سموم داشت. به‌طوری که در حضور *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت باقیمانده آفلاتوکسین B1 و اکراتوکسین به‌ترتیب 0/79 و 0/63 بود. در نمونه دوم که حاوی 3/75 ppb آفلاتوکسین B1 و 13/1 ppb اکراتوکسین بود، در حضور *لاکتوباسیلوس کازئی* نسبت باقیمانده آفلاتوکسین B1 و اکراتوکسین به‌ترتیب به 0/72 و 0/83 رسید که این نتایج همچنین نشان می‌دهد که مطابق پژوهش حاضر در غلظت بالاتر آفلاتوکسین درصد حذف آفلاتوکسین افزایش می‌یابد.

جدول 2- مقایسه میانگین اثر متقابل گونه مخمر× غلظت توکسین بر کاهش غلظت افلاتوکسین در مدل شبیه‌سازی شده معده بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح یک درصد

	میانگین در غلظت‌های مختلف (نانوگرم بر میلی لیتر)			
تیمار	صفر	0/25	0/5	0/49
بدون مخمر(شاهد)	0±0/000 k	0/228±0/013 h	0/473±0/015 a	0/465±0/016 b
پیچیا فرمنتانس	0±0/000 k	0/165±0/060 i	0/405±0/038 c	0/405±0/038 c
رودوتورولا موسیلاژینوزا	0±0/000 k	0/136±0/055 j	0/356±0/088 g	0/380±0/077 e
ساکارومایسس سرویزیه	0±0/000 k	0/160±0/044 i	0/395±0/071 d	0/370±0/055 f

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل گونه مخمر و زمان (جدول 3) نشان داد نسبت به شاهد غلظت توکسین در سوپرناتانت در بازه زمانی 120 دقیقه برای هر سه مخمر کمتر از زمان صفر بود. همچنین در هر دو زمان، هر سه مخمر توانایی کاهش غلظت توکسین در سوپرناتانت را داشتند. حداقل غلظت توکسین در سوپرناتانت در زمان 120 دقیقه و برای گونه *رودوتورولا موسیلاژینوزا* و سپس *ساکارومایسس سرویزیه* مشاهده شد. در زمان صفر تفاوتی بین این دو گونه مخمر از نظر غلظت توکسین در سوپرناتانت مشاهده نشد.

جدول 3- مقایسه میانگین اثر متقابل گونه مخمر× زمان بر کاهش غلظت افلاتوکسین در مدل شبیه‌سازی شده معده بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح یک درصد

	میانگین زمان‌های مختلف (دقیقه)	
تیمار	صفر	120
بدون مخمر (شاهد)	0/301±0/209 a	0/281±0/198 b
پیچیا فرمنتانس	0/277±0/193 b	0/210±0/167 d
رودوتورولا موسیلاژینوزا	0/268±0/196 c	0/168±0/135 f
ساکارومایسس سرویزیه	0/270±0/193 c	0/192±0/145 e

در پژوهش حاضر نتایج نشان داد که در محیط شبیه‌سازی شده معده، سلول‌های مخمر تحت تیمار اسیدی به مدت 120 دقیقه قادر به باند کردن آفلاتوکسین B1 به دیواره خود و در نتیجه کاهش غلظت سم می‌باشند. بر اساس تحقیق شتی و همکاران (2007) نیز، در تیمار سلول‌ها با اسید کلریدریک 2 مولار به مدت یک ساعت بیش از دو برابر افزایش در اتصال توکسین مشاهده شد. در مطالعه‌ای دیگر توسط رهایی و همکاران (1389)، بر اساس نتایج مشاهده شد که تیمار گونه‌های مخمر با اسید کلریدریک دو مولار برای 90 دقیقه در دمای اتاق، قدرت اتصال آفلاتوکسین را به حدود 60 درصد می‌رساند. شرایط اسیدی باعث رها شدن مونومرهای پلی‌ساکارید دیواره و شکستن آن‌ها به آلدئیدها می‌شود. شکست اتصالات سبب افزایش اتصال فیزیکی آفلاتوکسین و ساختار دیواره سلولی می‌شود. طبق

بررسی‌ها، احتمال می‌رود که در شرایط اسیدی مقداری از اتصالات درون سلولی باشد. در پژوهشی توسط Elsanhoty (2014)، نتایج، تاثیر pH بر توانایی *بیفیدوباکتریا* در حذف آفلاتوکسین M1 را نشان داد. نتایج نشان داد که شرایط اسیدی نیز در میزان کاهش آفلاتوکسین M1 تاثیر دارد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل زمان و غلظت توکسین (جدول 4) نشان داد نسبت به شاهد غلظت توکسین در سوپرناتانت در غلظت 0/25 نانوگرم در میلی‌لیتر در هر دو بازه زمانی کمتر از دو غلظت دیگر بود. در دو غلظت 0/49 و 0/5 تفاوتی در کاهش غلظت توکسین در سوپرناتانت در دو بازه زمانی مشاهده نشد ولی در غلظت 0/25 نانوگرم بر میلی‌لیتر غلظت توکسین در سوپرناتانت در 120 دقیقه کمتر از زمان صفر بود.

جدول 4- مقایسه میانگین اثر متقابل زمان× غلظت توکسین بر کاهش غلظت افلاتوکسین در مدل شبیه‌سازی شده معده بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح یک درصد

	میانگین در غلظت‌های مختلف (نانوگرم بر میلی‌لیتر)			
زمان (دقیقه)	**صفر**	**0/25**	**0/5**	**0/49**
صفر	0±0/000 f	0/21±0/021 d	0/45±0/022 a	0/45±0/024 a
120	0±0/000 f	0/13±0/052 e	0/35±0/070 c	0/36±0/058 c

در پژوهشی توسط صاحب‌قلم و همکاران (1392)، اثر غلظت‌های مختلف آفلاتوکسین بر میزان توکسین باقیمانده در مدت زمان اینکوباسیون انجام شد که نشان داد اینکوباسیون به مدت 4 ساعت باعث کاهش میزان آفلاتوکسین می‌شود که در غلظت ppb 5 میزان آن از 3/923 به 2/12 و در غلظت ppb 10 از 7/821 به 4/17 و در غلظت ppb 20 از 15/27 به 8/231 می‌رسد. به عبارت دیگر سلول‌های مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* در غلظت‌های بالاتر سم کاهش بیشتری در غلظت آفلاتوکسین ایجاد کردند چنانچه در غلظت ppb 20 بیشترین کارایی را در اتصال آفلاتوکسین از خود نشان دادند. در پژوهشی توسط کته شمشیری و همکاران (1393)، در اثر متقابل باکتری و زمان اینکوباسیون در کاهش سم مشاهده شد که در حضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و زمان 30 دقیقه اینکوباسیون درصد حذف آفلاتوکسین افزایش داشته است. در نتایج پژوهش حاضر نیز مشاهده شد که انکوباسیون به مدت 120 دقیقه باعث کاهش غلظت سم شد که این میزان کاهش در غلظت بیشتر سم یعنی 0/49 و 0/5 نانوگرم بر میلی‌لیتر بیشتر از 0/25 نانوگرم در میلی‌لیتر بود.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل گونه مخمر و زمان و غلظت توکسین (جدول 5) مشخص کرد نسبت به شاهد کمترین غلظت توکسین در سوپرناتانت مربوط به تیمار مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* در زمان 120 دقیقه و غلظت 0/25 نانوگرم بر میلی‌لیتر بود. در همین بازه زمانی این مخمر در غلظت‌های 0/5 و 0/49 نیز کمترین میزان سم جذب شده را (در این غلظت‌ها) نشان داد.

جدول 5- مقایسه میانگین اثر متقابل گونه مخمر× زمان× غلظت توکسین بر کاهش غلظت افلاتوکسین در مدل شبیه‌سازی شده معده بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح یک درصد

		میانگین در غلظت‌های مختلف (نانوگرم بر میلی‌لیتر)			
گروه	**زمان (دقیقه)**	**صفر**	**0/25**	**0/5**	**0/49**
بدون مخمر	**صفر**	0±0/000 r	0/240±0/000 k	0/487±0/000 a	0/480±0/000 a
	120	0±0/000 r	0/217±0/006 l	0/460±0/000 b	0/450±0/010 b
پیچیا فرمنتانس	**صفر**	0±0/000 r	0/220±0/000 l	0/440±0/000 c	0/450±0/017 b
	120	0±0/000 r	0/110±0/000 p	0/370±0/000 e	0/360±0/000 f
رودوتورولا موسیلاژینوزا	**صفر**	0±0/000 r	0/187±0/006 n	0/437±0/015 c	0/450±0/017 b
	120	0±0/000 r	0/087±0/006 q	0/277±0/006 j	0/310±000 i0/
ساکارومایسس سرویزیه	**صفر**	0±0/000 r	0/200±0/000 m	0/460±0/000 b	0/420±0/000 d
	120	0±0/000 r	0/120±0/010 o	0/330±0/010 g	0/320±0/000 h

مطالعات ال-نظامی و همکاران (1998)، نشان داد که مقدار آفلاتوکسین B1 حذف شده با افزایش غلظت سم و با گذشت زمان افزایش پیدا کرد اما درصد حذف تفاوت عمده‌ای نداشت. همچنین در مطالعه کته‌شمشیری و همکاران (1393)، مشاهده شد که در غلظت

ppb 0/25 آفلاتوکسین، اثر خودایمنی ظاهر شده و باعث کاهش میزان حذف آفلاتوکسین می‌گردد اما با افزایش غلظت آفلاتوکسین تا ppb 0/5، با توجه به محدود بودن مقاومت باکتری درصد حذف توکسین افزایش یافت. به همین دلیل در این پژوهش نیز مشاهده شد که در غلظت 0/25 نانوگرم بر میلی‌لیتر میزان کاهش غلظت سم تفاوت چشمگیری نداشت اما با افزایش غلظت آفلاتوکسین تا 0/49 و 0/5 نانوگرم بر میلی‌لیتر، به دلیل محدود بودن مقاومت مخمر و از بین رفتن اثر خود ایمنی میزان حذف آفلاتوکسین بیشتر شد. در مطالعه‌ای دیگر از شتی و همکاران (2007)، مقادیر مطلق اتصال آفلاتوکسین به طور خطی با افزایش غلظت آفلاتوکسین B1 افزایش یافت. همچنین غلظت ابتدایی آفلاتوکسین به‌طور قابل توجهی ظرفیت اتصال آفلاتوکسین را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که در حضور هر سه گونه مخمر نسبت به شاهد میزان حذف آفلاتوکسین B1 در محیط شبیه‌سازی شده معده افزایش یافت. همچنین با گذشت زمان غلظت آفلاتوکسین B1 در محیط معده کاهش یافت. به علاوه، نتایج مشخص کرد که در غلظت 0/25 نانوگرم در میلی‌لیتر و در حضور مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* کمترین میزان غلظت آفلاتوکسین در معده مشاهده شد. این نتایج در حالی به‌دست آمد که غلظت‌های ابتدایی آفلاتوکسین B1 میزان اتصال آفلاتوکسین را تحت تاثیر قرار داده و سلول‌های مخمر در غلظت‌های بالاتر آفلاتوکسین B1 کارایی بیشتری از خود در کاهش غلظت آفلاتوکسین نشان می‌دهند، چنانچه در غلظت‌های بالاتر سم یعنی 0/49 و 0/5 نانوگرم در میلی‌لیتر میزان کاهش بیشتری در غلظت آفلاتوکسین B1 در محیط شبیه‌سازی شده معده مشاهده شد. در مجموع، با توجه به نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که هر سه گونه مخمر توانایی کاهش آفلاتوکسین B1 را در محیط شبیه‌سازی شده معده داشتند اما استفاده از مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* را می‌توان به‌عنوان جدایه‌ای کاربردی در بیوکنترل آفلاتوکسین B1 معرفی نمود.

منابع

اصغرنژاد ف. مهدیان ص. امیری بشلی ب. سید جعفر نظری س. 1393. توانایی تولید آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1 و G2 در تعدادی از گونه‌های قارچ آسپرژیلوس به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC). فصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی، 2، 4: 70-55.

بامیار ا. محمدزاده میلانی ج. سید جعفری نظری س. 1394. تاثیر انواع مخمر بر میزان آفلاتوکسین B1 طی فرآیند تهیه نان. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، 3: 339-346.

رهایی س. امام جمعه ز. رضوی ه. مظاهری م. 1388. توانایی سویه *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG جهت کاهش آفلاتوکسین B1 موجود در پسته. مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی، 1(3): 51-64.

رهایی س. رضوی ه. امام جمعه ز. 1389. بررسی توانایی گونه مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* جهت کاهش آفلاتوکسین موجود در پسته. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، 7(1): 81-87.

صاحب قلم ه. محمدی ثانی ع. مهربان م. 1392. حذف بیولوژیکی آفلاتوکسین B1 توسط مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* در خوراک دام. مجله نوآوری در علوم و فناوری غذایی، 3: 99-104.

کته شمشیری م. محمدی ثانی ع. سرابی جماب م. رهنما وثوق پ. مهربان سنگ آتش م. 1393. بررسی اثر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر کاهش آفلاتوکسین M1 در مدل شبیه سازی شده معده انسان. پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، 3: 210-204.

Abbas KH. Cartwright DR. Xie W. Shier WT. 2006. Aflatoxins and fumonisin contamination of corn (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. *Crop Protection*, 25: 1-9.

Cooney DO. 1980. Activated Charcoal: Antidotal and other medical uses, New York: Marecel dekker. ISBN 0824769139.

Elsanhoty RM. Salam SA. Ramadan MF. Badr FH. 2014. Detoxification of aflatoxin M1 in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria. *Food Control*. 43. 129-134

El-Khoury A. Atoui A. Yaghi J. 2011. Analysis of aflatoxin M1 in milk and yogurt and AFM1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. *Food Control*, 22: 1695-1699.

El-Nezami H. Kankaanpaa P. Salminen S. Ahokas J. 1998. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen aflatoxin B1. *Food and Chemical Toxicology*, 36: 321-326.

El-Nezami H. Mykanen H. Kankaanpaa P. Salminen S. Ahokas J. 2000. Ability of *Lactobacillus* and *Propionibacterium* strains to remove aflatoxin B1 from the chicken duodenum. *Journal of Food Protection*, 63: 549– 552.

Fardos B. Magda M. 2009. Trials towards reduction of fungal growth and aflatoxin G1 production in Arabic coffee using different additivies. *AfricanJournal of Food Science*, 3: 68-76.

Giovati L. Magliani W. Ciociola T. Santinoli C. Conti S. Polonelli L. 2015. AFM1 in milk physical biological and prophylactic methods to mitigate contamination. *Toxins*, 7: 4330-4349.

Hibbett DS. Binder M. Bischoff JF. Blackwell M. Cannon PF. Eriksson OE. Huhndorf S. James T. Kirk PM. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Mycological Research*, 111: 509-547.

Kabak B. Brandon EFA. Var I. Blokland M. Sips AJAM. 2009. Effects of probiotic bacteria on the bioaccessibility of aflatoxin B1 and ochratoxin A using an in vitro digestion model under fed conditions. *Journal of Environmental Science and Health*, Part B, 44: 472-480.

Lehmann HR. Dolle E. Zettier KH. 1991. Centrifuges for milk clarification and bacterial removal. In H. G. Kronchen, & V. Belting, Westfalia Separator Technical Scientific Documentation, No. 12, (pp. 1- 40).

Mahesh, B. K. and Devegowda, G. 1996, Ability of aflatoxin binders to bind aflatoxin contaminated poultry feeds and liquid media *in vitro*, in poster presented at the 12th Annual Symposium on Biotechnology in the feed industry, Lexington, Virginia.

Masoero F. Gallo A. Diaz D. Piva G. Moschini M. 2009. Effects of the procedure of inclusion of a sequestering agent in the total mixed ration on proportional aflatoxin M1 excretion into milk of lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 150: 34-45.

Magnoli AP. Rodriguez MC. González Pereyra ML. Poloni VL. Peralta MF. Nilson AJ. Miazzo RD. Bagnis G. Chiacchiera SM. Cavaglieri LR. 2017. Use of yeast (*Pichia kudriavzevii*) as a novel feed additive to ameliorate the effects of aflatoxin B_1 on broiler chicken performance. *Mycotoxin Research*, 33(4): 273-283.

MoreiradaSilva JF. Peluzio JM. Prado G. CruzMadeira JEG. OliveiraSilva M. De Morais PB. Rosa CA. Pimenta RS. Nicoli JR. 2015. Use of probiotics to control aflatoxin production in peanut grains. *The Scientific World Journal*, 959(138): 1-8.

Mahesh BK. Devegowda G. 1996, Ability of aflatoxin binders to bind aflatoxin contaminated poultry feeds and liquid media *in vitro*, In poster presented at the 12th Annual Symposium on Biotechnology in the feed industry, *Lexington*, *Virginia*.

Pierides M. El-Nezami H. Peltonen K. Salminen S. Ahokas J. 2000. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M1 in a food model. *Journal Food Protection*, 63: 645–650.

Rahaie s. Emam-Djomeh z. Razavi SH. Mazaheri M. 2010. Immobilized *Saccharomyces Cerevisiae* as a potential aflatoxin decontaminating agent in pistachio nuts. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41. 82-90

Sieuwerts S. De Bok FAM. Mols E. de Vos WM. Van Hylckama Vlieg JET. 2008. A simple and fast method for determining colony forming units. *Letters in Applied Microbiology*, 47: 275-278.

Selma MV. Martinez-culebras A. Aznar PV. 2008. Real-time PCR based procedures for detection and quantification of *Aspergillus carbonarius* in wine grapes. *Journal of Food Microbiology*, 122: 126-134.

Shetty PH. Hald B. Jespersen L. 2007. Surface binding of aflatoxin B1 by *Saccharomyces cervisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *International Journal of Food Microbiology*, 113(1): 41-46

Shetty PH. Jespersen L. 2006. *Saccharomyces cervisiae* and *lactic acid bacteria* as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 48-55.

Thathana MG. Murage H. KingAbia AL. Pillay M. 2017. Morphological characterization and determination of aflatoxin-production potentials of *aspergillus flavus* isolated from maize and soil in Kenya. *Agriculture*, 7(80): 1-14.

Wang H. Lei Y. Yan L. Wan L. Ren X. Chen S. Dai X. Guo W. Jiang H. Liao B. 2016. Functional genomic analysis of *Aspergillus flavus* interacting with resistant and susceptible peanut. *Toxins*, 8(46): 1-16.

Zhou G. Chen Y. Kong Q. Yunxiao M. Liu Y. 2017. Detoxification of Aflatoxin B1 by *Zygosaccharomyces rouxii* with Solid State Fermentation in Peanut Meal. *Toxins*. 9. 42. 1-9.

Zhuang Z. Lohmar JM. Satterlee T. Cary JW. Calvo AM. 2016. The master transcription factor *mtfA* governs aflatoxin production morphological development and pathogenicity in the fungus *Aspergillus flavus*. *Toxins*, 8(29): 1-16.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 441-452

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 452-441

The effect of some species of yeasts on reduction of aflatoxin B1 of *Aspergillus flavus* in simulated model of human stomach

S. Bahram vand [1], S. Mohammadi[2*]

Received: 2018.08.14
Accepted: 2019.03.16

Introduction: AFB1 is a highly carcinogenic secondary metabolite of some species of *Aspergillus*. Recently, use of microorganisms has been increased to reduce the absorption of mycotoxins in gastrointestinal tract. So, in this study the effect of the three yeasts *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia fermentans*, and *Rhodotorula mucilaginosa* on reduction of AFB1 in a simulated model of human stomach was investigated.

Materials and methods: At first, *A. flavus* was isolated and then were purified. Then, AFB1 was produced in PDB media and presence of AFB1 was determined by blue fluorescence radiation under UV light. Toxin was extracted using the method of solvation in chloroform and injected into HPLC and the final concentration was 49 $^{ng}/_{ml}$. The simulated stomach was contaminated with 0.1 ml samples of AFB1 of three concentrations: 0.25 $^{ng}/_{ml}$ and 0.50 $^{ng}/_{ml}$ from standard AFB1 and also 49 $^{ng}/_{ml}$ from the *A. flavus* under study. Then the yeasts were added and the mixture was incubated. After sampling at 0 and 120 minutes, the samples were centrifuged. The supernatants were separated to determine the concentration of residual toxin by direct competitive ELISA method. The experiment was conducted in a completely randomized design with a factorial experiment. The three factors included yeast (four levels: three yeasts and non-yeast treatments), concentration (four levels: 0, 0.25, 0.50 and 0.49 $^{ng}/_{ml}$) and time (two levels: 0 and 120 min). The whole experiment was carried out 3 times.

Results & ddiscussion: The results showed that all three yeasts had the ability to reduce the toxin in the stomach compared to the control treatment (without yeast), but the effect of *R.mucilaginosa* was more significant than the other two. The lowest toxin concentration in supernatant was observed at 0.25 $^{ng}/_{ml}$. Over time, toxin concentration in supernatant decreased. The interaction of yeasts and toxin concentration showed that in comparison with the control, at each three concentrations, all three yeasts could reduce toxin concentration. The minimum toxin concentration in supernatant was obtained at 0.25 $^{ng}/_{ml}$ in the presence of *R.mucilaginosa*. The results of interaction of yeast×time showed that after both 0 and 120 minutes, all three yeasts were able to reduce the toxin and the minimum toxin concentration was observed after 120 minutes for *R.mucilaginosa*. The results of interaction of time and toxin concentration in the model showed that at 0.25 $^{ng}/_{ml}$ toxin concentration was at the lowest level after 120 minutes. The results of interaction of yeast×time×toxin concentration showed that the lowest toxin concentration was related to *R.mucilaginosa* after 120 minutes at 0.25 $^{ng}/_{ml}$. To conclude, the results of this study showed that all three yeasts had the ability to reduce AFB1 in the simulated model of human stomach, but *R.mucilaginosa* can be introduced as the most efficient isolate in biocontrol of AFB1.

Keywords: *Aspergillus flavus*, aflatoxin B1, yeast, simulated model of human stomach

1. Former MSc students of Microbiology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
Saharrr.7293@gmail.com, 09171163570
2. Assistant professor of plant pathology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
(* Corresponding author E-mail: mohammadi.pp@gmail.com)

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 453-463

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 463-453

بررسی ویژگی‌های مکانیکی، فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم ژلاتینی حاوی هیدروسل استخراجی زردچوبه (*Curcuma longa*)

زهره دیدار*

تاریخ دریافت: 1397/06/04
تاریخ پذیرش: 1398/01/25

چکیده

ژلاتین از جمله ترکیبات متداول در تهیه بسته بندی های خوراکی است. در این پژوهش استفاده از درصدهای مختلف (5-100%) هیدروسل استخراجی زردچوبه در فرمولاسیون تهیه فیلم خوراکی ژلاتینی مورد بررسی قرار گرفت. ویژگی‌های فیزیکی شامل درصد عبور نور، میزان نفوذ پذیری نسبت به بخار آب، طیف سنجی مادون قرمز فوریه، تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی، مقاومت به کشش و درصد طویل شدن در فیلم‌های تولید شده، بررسی گردید. ویژگی‌های ضدمیکروبی بر سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* نیز بررسی شد. استفاده از هیدروسل استخراجی زردچوبه سبب افزایش میزان ممانعت نسبت به اشعه ماوراء بنفش و کاهش شفافیت فیلم خوراکی گردید ($p\leq0/01$). میزان مقاومت به کشش با افزودن هیدروسل در فرمولاسیون فیلم خوراکی افزایش ولی درصد طویل شدن فیلم خوراکی کاهش نشان داد به طوری که میزان مقاومت در برابر تنش کششی در نمونه شاهد 19/3 مگاپاسکال و در نمونه حاوی 100٪ هیدروسل، 33/3 مگا پاسکال اندازه‌گیری شد. درصد افزایش طول نیز در نمونه شاهد180% و در نمونه حاوی هیدروسل برابر با 96٪ بود. افزودن درصدهای مختلف هیدروسل سبب افزایش نفوذ پذیری نسبت به بخار آب شد ($p\leq0/01$). بررسی اثر ضد میکروبی نیز نشان داد که افزودن هیدروسل به فرمولاسیون فیلم خوراکی سبب ایجاد فعالیت ضد میکروبی در برابر *استافیلوکوکوس‌های* مورد مطالعه گردید که بیشترین حساسیت در مورد *اورئوس* و *ساپروفیتیکوس* مشاهده شد (قطر هاله عدم رشد برابر با 37 میلی متر). مطابق نتایج حاصله از این پژوهش، افزودن هیدروسل زردچوبه به فرمولاسیون فیلم ژلاتینی، سبب ایجاد خاصیت ضد میکروبی در برابر سویه‌های باکتری *استافیلوکوکوس* می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: فیلم ژلاتینی، هیدروسل، زردچوبه، بسته بندی، اثر ضد میکروبی

مقدمه

افزایش مشکلات زیست‌محیطی ناشی از بسته‌بندی‌های پلاستیکی منجر به کاربرد روز افزون تهیه بسته‌بندی‌های خوراکی گردیده است (Tongnuanchan *et al*., 2016). ژلاتین از جمله ترکیباتی است که برای تهیه فیلم‌های خوراکی بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد که علت آن ویژگی‌هایی نظیر خاصیت ممانعت‌کنندگی در برابر گازها، ترکیبات فرّار و اشعه ماوراءبنفش است (Tongnuanchan *et al*., 2014). یکی از ویژگی‌های مهم بسته‌بندی‌ها، محافظت مواد غذایی در برابر آلودگی‌های ضدمیکروبی است، لذا به‌منظور افزایش این ویژگی، امروزه بسته‌بندی‌هایی با خواص ضدمیکروبی مورد بررسی قرار می‌گیرند (Wu *et al*., 2017) از جمله افزودن ترکیبات مختلف با اثر ضدمیکروبی در بسته‌بندی‌های خوراکی نظیر اسانس‌های گیاهی مانند دارچین در فرمولاسیون فیلم ژلاتینی (Wu *et al*., 2017; kim *et al*., 2018)، اسانس سنبل هندی و ریحان در فیلم ژلاتینی (Tongnuanchan *et al*.,2014)، اسانس برگ پرتغال در فیلم ژلاتینی (Alparslan *et al*., 2016)، روغن میخک به فیلم پکتینی (Nisar *et al*., 2018)، اسانس دارچین به فیلم خوراکی پلی‌ساکاریدهای سویا (Ghani *et al*., 2018)، اسانس نعناع دشتی به فیلم خوراکی کربوکسی‌متیل سلولز و کیتوزان (Shahbazi *et al*., 2018)، اسانس اسطوخودوس به فیلم خوراکی نشاسته (Jamróz *et al*., 2018)، اسانس آویشن و اسطوخودوس به فیلم خوراکی ژلاتینی (Martucci *et al*., 2015). هیدروسل محصول فرعی استخراج اسانس‌های روغنی از گیاهان معطر است. هیدروسل‌ها حاوی میزان اندکی اسانس روغنی هستند (کمتراز 1 گرم در لیتر) و حاوی ترکیبات محلول در آب هستند (Labaddie *et al*., 2016). هیدروسل‌ها همچنین در شرایط مناسب نگهداری ماندگاری زیادی دارند (بیش از یک سال). پژوهش‌های مختلفی اثر ضدمیکروبی و

1- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد نیشابور
(* - نویسنده مسئول: Email: zdidar57@gmail.com)

DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.74964

ضدکپکی هیدروسل‌ها را نشان داده است (D'Amato *et al*., 2018). تحقیق Shen و همکاران (2017) اثر ضدمیکروبی هیدروسل استخراجی از گیاه نخل آرکا در برابر *اشرشیا کلی*، *کاندیدا آلبیکانس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* را نشان داده است (Shen *et al*., 2017). Ozturk و همکاران (2016) اثر ضدمیکروبی هیدروسل رزماری در برابر *سالمونلا تیفی موریوم*، *اشرشیاکلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* را نشان داده‌اند. اثر ضدکپکی (Belabbes *et al*., 2017) و ضدویروسی (Kaewprom *et al*., 2017) هیدروسل‌های مختلف گیاهی نیز گزارش شده است.

زردچوبه از خانواده زنجبیل با نام علمی *Curcuma longa* است. قسمت مورد استفاده غذایی و دارویی این گیاه ریزوم‌های خشک شده آن است. وجود انواع ترکیبات مؤثره ریزوم گیاه زردچوبه از جمله کورکومین، روغن‌های فرّار، زینجیرن، آلفا و بتا تورمرین و کربوهیدرات‌هایی نظیر آرابینوز، فروکتوز، گلوکز و نشاسته مشخص گردیده است. اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی، محافظت کبد، ضدالتهابی، کاهش سطح کلسترول خون، بهبود اختلالات گوارشی، کاهش سطح گلوکز خون، کاهش بروز آلزایمر از طریق کاهش تجمع پروتئین بتاآمیلوئید در مغز از جمله اثرات مفید مصرف زردچوبه است (فلاح حسینی و همکاران، 1388). بررسی‌هایی در خصوص تهیه فیلم‌های خوراکی حاوی عصاره زردچوبه صورت گرفته است از جمله افزودن عصاره زردچوبه در فرمولاسیون فیلم خوراکی نشاسته (Silveira Hornung *et al*, 2018)، اما اثر افزودن هیدروسل گیاهی در فرمولاسیون فیلم‌های خوراکی مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف از انجام این پژوهش بررسی استفاده از هیدروسل استخراجی زردچوبه در فرمولاسیون فیلم ژلاتینی و بررسی خواص مکانیکی، فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم حاصله بود.

مواد و روش‌ها

استخراج هیدروسل

جهت استخراج هیدروسل، زردچوبه (*Curcuma longa*) از بازار محلی نیشابور تهیه شد. استخراج هیدروسل بدین صورت انجام شد: 100 گرم از هر کدام آسیاب شده در فلاکس 2 لیتری دارای 1 لیتر آب (1:10 وزنی/ حجمی) برای مدت 2 ساعت توسط دستگاه کلونجر حرارت داده شده و عمل تقطیر با بخار انجام شد. پس از خاتمه، اسانس روغنی جداسازی گردید و هیدروسل حاصله در بطری استریل در دمای 4 درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده قرار داده شد.

آماده‌سازی سویه‌های میکروبی

سویه‌های میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112)، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* (PTCC 1440)، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (PTCC 1435) به‌صورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. ویال باکتریایی در شرایط استریل، شکسته شده و به محیط کشت مناسب تریپتوز سوی براث در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* و نوترینت براث در مورد *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*) منتقل گردید و برای مدت 24 ساعت در دمای37 درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری شد. سلول‌های میکروبی توسط سانتریفوژ (ALC4232) با دور 4000rpm جدا شدند. سپس توسط روش مک فارلند جمعیت باکتریایی تعیین شد (میزان دانسیته نوری در طول موج625 نانومتر برابر با 0/13 -0/08 بود که معادل با نیم مک فارلند و جمعیت تقریبی $1/5\times10^8$ باکتری در میلی‌لیتر بود) (محمدی و همکاران، 1394) سپس با رقیق‌سازی به نسبت 01/ توسط سرم فیزیولوژی استریل، کدورت$1/5\times 10^6$ باکتری در هر میلی‌لیتر به‌دست آمد (مرادیان ایوری و همکاران، 1394).

تهیه فیلم ژلاتینی

تهیه فیلم ژلاتینی به روش قالب‌گیری انجام شد. ژلاتین با غلظت 4% در آب مقطر با دمای 45 درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان 30 دقیقه حل شد. سپس گلیسرول با غلظت 25 درصد وزنی- وزنی ژلاتین به محلول اضافه شد. هیدروسل با غلظت‌های 5، 30، 50، 80 و 100% جایگزین آب مصرفی گردید. به‌منظور حذف حباب‌های هوا در محلول تهیه شده از دستگاه اولتراسونیک (Eurosonic) به مدت 5 دقیقه استفاده شد و سپس میزان 10 میلی‌لیتر از محلول تهیه شده داخل قالب با ابعاد 120×80 میلی‌متر ریخته شد و در دمای 22 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 50 درصد به مدت 48 ساعت خشک گردید. پس از مرحله خشک کردن، قطعات فیلم ژلاتینی تهیه شده داخل دسیکاتور با دمای 22 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 50 درصد برای مدت 3 روز قبل از انجام آنالیزهای مختلف قرار داده شد (Wu *et al*., 2017).

بررسی خصوصیات بافتی فیلم ژلاتینی

بررسی خصوصیات بافتی فیلم‌های ژلاتینی با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (TA-XT plus، انگلستان) و به کمک نرم‌افزار Exponent صورت گرفت (ASTM- D882, 2001). فیلم ژلاتینی در اندازه 60×20 میلی‌متر بریده شد. نمونه‌های فیلم در بین دو فک با سرعت 1 میلی‌متر در ثانیه کشیده شد. میزان تنش کششی و درصد طویل شدن(افزایش طول تا نقطه پارگی) مطابق فرمول‌های 1 و 2 محاسبه شد.

$$\text{تنش کششی (مگا پاسکال)} = \frac{\text{حداکثر نیروی لازم برای پاره شدن فیلم حسب بر نیوتن}}{\text{سطح اولیه بر حسب متر مربع}} \quad (1)$$

$$\text{درصد طویل شدن فیلم} = \frac{\text{اختلاف طول هنگام پاره شدن بر حسب متر}}{\text{طول اولیه حسب بر متر}} \quad (2)$$

بررسی میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم ژلاتینی

نفوذپذیری نسبت به بخار آب با روش وزن‌سنجی انجام شد (ASTM- E96-95, 1995). در یک ظرف 14 میلی‌لیتری، 10 میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد و توسط فیلم‌های ژلاتینی مورد بررسی با مساحت 1/5 سانتی‌متر مربع دربندی شد. بطری دربندی شده ابتدا توزین گردید و در محفظه دارای سیلیکاژل با میزان رطوبت نسبی و دمای مشخص قرار گرفت. هر 12 ساعت و به مدت 3 روز توزین ظرف انجام شد. سپس نمودار تغییرات وزن ظرف در برابر زمان رسم شد، شیب آن محاسبه و میزان نفوذپذیری نسبت به رطوبت با فرمول 3 محاسبه شد.

$$WVP(gm^{-1}pa^{-1}s^{-1})=\frac{(W\times X)}{A\times t\times \Delta P} \quad (3)$$

W میزان اختلاف وزن بطری، X ضخامت فیلم ژلاتینی، A مساحت فیلم ژلاتینی بر حسب متر مربع، t زمان بر حسب ثانیه و Δp اختلاف فشار بخار اتمسفر حاوی سیلیکاژل و آب خالص است.

بررسی میزان ضخامت فیلم ژلاتینی

ضخامت فیلم‌های ژلاتینی توسط میکرومتر دیجیتال صفر- 25 Guanglu (211-701) انجام شد. از هشت نقطه از فیلم ضخامت تعیین شد و میانگین اعداد به‌عنوان ضخامت فیلم در نظر گرفته شد.

بررسی میزان عبور نور فیلم ژلاتینی

بررسی میزان عبور نور فیلم‌های ژلاتینی از روش اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (ژنوی 6305) انجام شد (Tongnuanchan *et al*., 2012). بدین صورت که عبور نور در ناحیه طول موج‌های مرئی و ماوراء بنفش (200 تا 800 نانومتر) اندازه‌گیری شد. قطعات فیلم ژلاتینی به‌صورت مستطیل شکل بریده شد و مستقیماً داخل سل دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد. سل خالی به‌عنوان کنترل استفاده شد. نتایج آزمون به‌صورت درصد عبور نور ثبت گردید. جهت محاسبه میزان کدورت فیلمها از رابطه زیر استفاده شد:

$$\text{کدورت} = \text{میزان جذب در طول موج 600 نانومتر / ضخامت فیلم} \quad (4)$$

بررسی خصوصیات ضد میکروبی فیلم ژلاتینی

جهت بررسی خصوصیات ضدمیکروبی از روش Martucci و همکاران (2015) استفاده گردید. ابتدا مقدار 0/1 میلی‌لیتر از میکروارگانیسم‌های مورد نظر شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* با جمعیت تقریبی $1/5\times10^6$ به محیط کشت جامد شامل تریپتوز سوی آگار و نوترینت آگار منتقل شد. قطعات 12 میلی‌متری از فیلم ژلاتین بریده شده و روی محیط کشت قرار داده شد. گرمخانه‌گذاری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 50% برای مدت 24 ساعت صورت گرفت. قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه گیری شد. تمام آزمون‌ها در سه تکرار انجام گردید.

طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

طیف مادون قرمز تبدیل فوریه توسط دستگاه Perkin-Elmer مدل Spectroma2 در دامنه فرکانس $4000-4500\ cm^{-1}$ ثبت شد (Sharma *et al*., 2015).

تصویربرداری میکروسکوپی روبشی

به‌منظور بررسی مورفولوژی سطح فیلم‌های ژلاتینی از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل phenom proX با بزرگنمایی 10000-30000 صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار صورت گرفت. آنالیزهای آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار STATISTICA نسخه 13 انجام شد. میانگین تیمارها به روش دانکن در سطح اطمینان 99 درصد مقایسه گردیدند. برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار اکسل 2010 استفاده شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی

ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های ژلاتینی در جدول1، نشان داده شده است. بررسی‌ها نشان داد افزودن هیدروسل استخراجی زردچوبه به فرمولاسیون فیلم ژلاتینی سبب تغییرات قابل توجه در ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم ژلاتینی گردید ($p\leq0/01$).

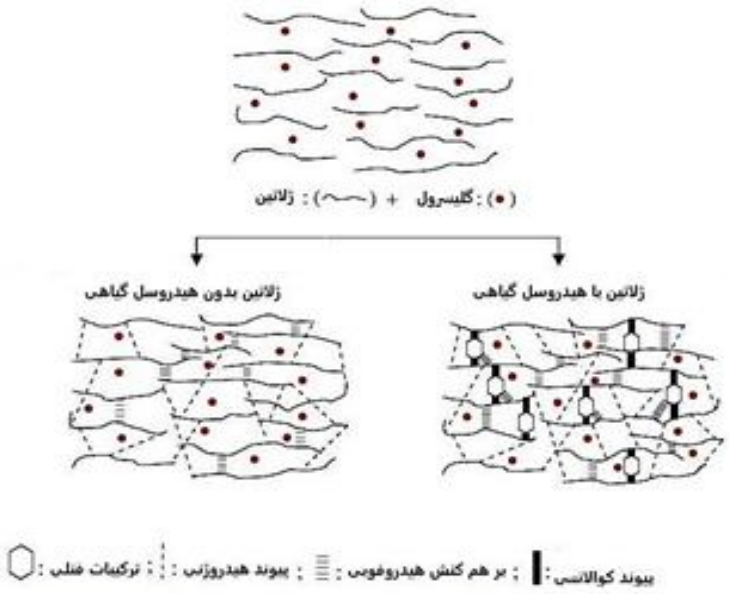
نفوذپذیری نسبت به بخار آب

نتایج مربوط به میزان نفوذپذیری فیلم‌های ژلاتینی تهیه شده در جدول نشان داده شده است. استفاده از هیدروسل زردچوبه سبب کاهش میزان نفوذ پذیری فیلم ژلاتینی نسبت به نمونه شاهد گردید ($p\leq0/01$) البته تیمار حاوی 5% هیدروسل زردچوبه این اثر ناچیز بود (جدول 1). علت کاهش میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب در اثر افزودن عصاره‌های گیاهی به دلیل افزایش میزان پیوندهای جانبی ناشی از افزایش پیوندهای هیدروژنی و برهم کنش‌های هیدروفوبی است که سبب تشکیل شبکه‌ای در فیلم خوراکی با حجم آزاد ماتریکس پلیمری کمتر است که سبب کاهش میزان نفوذ پذیری نسبت به بخار آب می‌گردد (Sazedul Hoque *et al*., 2011).

جدول 1- ویژگی‌های مکانیکی و فیزیکی فیلم‌های ژلاتینی*

فیلم ژلاتینی حاوی هیدروسل زردچوبه	مقاومت در برابر کشش(MPa)	افزایش طول(٪)	نفوذ پذیری نسبت به بخار آب (10^{-10}g/m.pa.s)	ضخامت (mm)	میزان کدورت
نمونه شاهد	19/3±1/5 f	180±5/5 a	1/32±0/02a	0/11±0/02a	0/099±0/01d
%5	18/9±1 e	169±4/5 b	1/25±0/02b	0/1±0/02a	0/1±0/02d
%30	22/1±2/4 d	112±3/6 c	1/18±0/03c	0/095±0/05b	0/52±0/03c
%50	24/3±2/3 c	99±3 d	1/06±0/04d	0/078±0/03c	1/15±0/03b
%80	28/6± 2/6 b	97±3 e	0/94±0/02e	0/07±0/04c	1/57±0/05a
%100	33/3± 3/3 a	96±3 e	0/95 ±0/03e	0/06±0/02d	2±0/08a

*میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 1 درصد هستند در آزمون چند دامنه دانکن هستند.



شکل 1- تصویر شماتیک اثر هیدروسل بر ویژگی‌های ساختاری ژلاتین و پیوندهای جانبی در ساختار ژلاتین و شبکه فیلم خوراکی

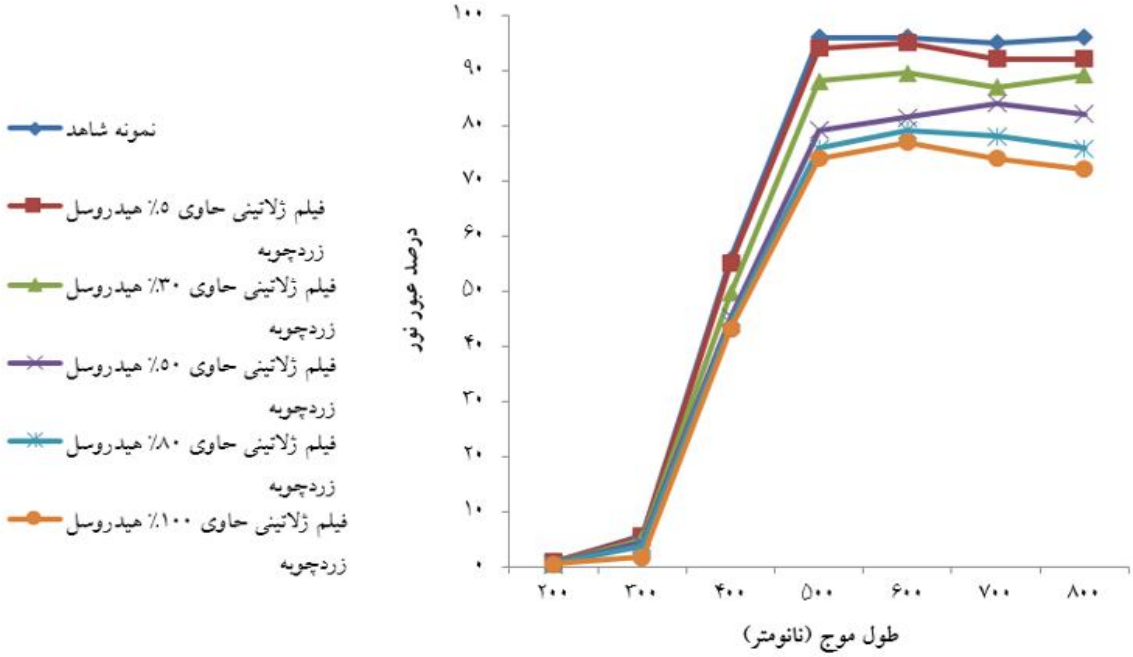
ضخامت فیلم‌های ژلاتینی

بررسی‌ها نشان داد با افزودن درصدهای مختلف هیدروسل زردچوبه به فرمولاسیون فیلم ژلاتینی، ضخامت کاهش می‌یابد که میزان کاهش، با درصد هیدروسل ارتباط مستقیم دارد ($p\leq0/01$). در مطالعات مربوط به افزودن اسانس‌های روغنی، افزایش ضخامت فیلم‌های ژلاتینی به علت متجانس نبودن ساختار لیپیدی اسانس‌ها با ساختار پروتئینی فیلم ژلاتینی، افزایش ضخامت فیلم‌های ژلاتینی حاوی اسانس‌های روغنی مشاهده شده است (Wu *et al.*, 2017) به علت محلول در آب بودن ترکیبات تشکیل‌دهنده هیدروسل، هنگام تهیه فیلم ژلاتینی به خوبی در ساختار فیلم ژلاتینی جایگزین می‌شوند و سبب کاهش ضخامت می‌گردند. Sazedul Hoque و همکاران(2011) در گزارش خود بیان نمودند افزودن عصاره‌های گیاهی مختلف به فرمولاسیون فیلم ژلاتینی، منجر به کاهش ضخامت فیلم حاصله گردیده است. علت کاهش ضخامت فیلم ژلاتینی در اثر افزودن هیدروسل زردچوبه را می‌توان به تشکیل انواع پیوندهای هیدروژنی و بر هم کنش‌های هیدروفوبی در این شرایط دانست که منجر به تشکیل شبکه فیلم خوراکی متراکم‌تر می‌شود در نتیجه کاهش ضخامت در فیلم ژلاتینی می‌گردد (شکل 1).

درصد عبور نور فیلم ژلاتینی

نتایج نشان داد استفاده از هیدروسل استخراجی زردچوبه در فرمولاسیون فیلم ژلاتینی سبب تغییر در میزان درصد عبور نور در طول موج‌های مختلف می‌گردد (شکل 2). در محدوده طول موج ماوراء بنفش 300-200 نانومتر میزان درصد عبور نور با افزودن هیدروسل به فرمولاسیون کاهش پیدا می‌کند که با توجه به این که بسته بندی‌هایی که ممانعت بیشتری نسبت به اشعه ماوراءبنفش دارند مانع از

فوتواکسیداسیون چربی‌ها می‌شوند و در نتیجه سبب افزایش ماندگاری محصولات غذایی می‌گردند لذا از این نظر افزودن هیدروسل به دلیل کم کردن درصد عبور نورماوراء بنفش از فیلم خوراکی تهیه شده مفید است. در طول موج‌های مرئی (600 -350 نانومتر) نیز افزودن هیدروسل استخراجی زردچوبه سبب کاهش درصد عبور نور شده است که نشان دهنده شفافیت بیشتر فیلم شاهد نسبت به نمونه‌های فیلم ژلاتینی حاوی هیدروسل است (شکل 2).



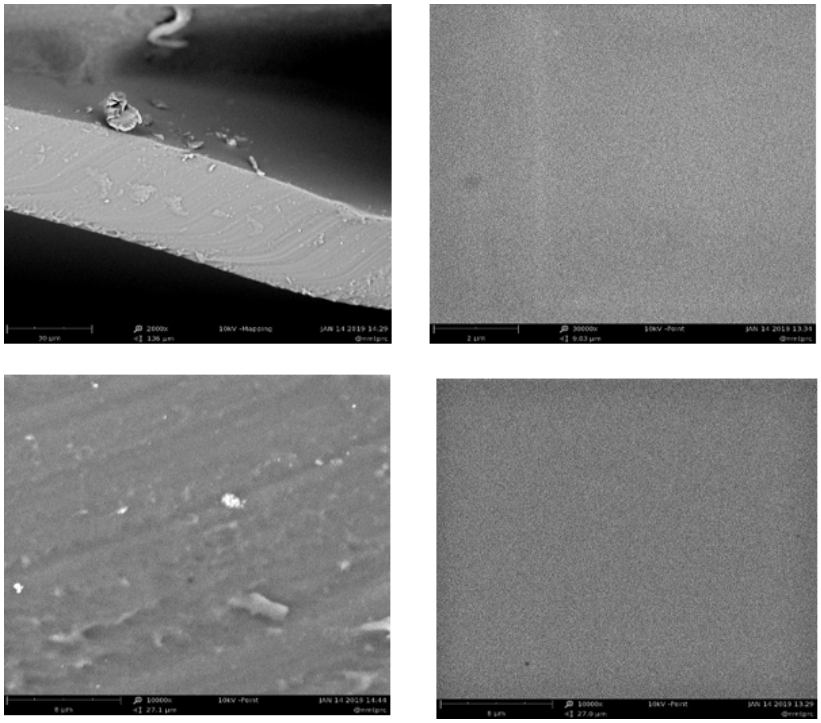
شکل 2- درصد عبور نور از فیلم‌های ژلاتینی در دامنه طول موج 800-200.

کدورت معیار دیگری جهت سنجش میزان شفافیت فیلم‌ها است. در واقع هرچه کدروت بیشتر باشد، شفافیت کمتر است. مقایسه میزان کدورت فیلم‌های ژلاتینی تولیدی نشان داد در فیلم های حاوی هیدروسل ،کدورت بیشتر و در واقع شفافیت کمتر است. البته در مقدار 5% افزودن هیدروسل زردچوبه به فرمولاسیون فیلم ژلاتینی، میزان کدورت تفاوت معنی داری با نمونه شاهد نداشت ولی در غلظت‌های بیشتر، کدورت افزایش پیدا نمود (جدول 1). افزودن اسانس‌های گیاهی به دلیل وجود قطرات چربی سبب ناهمگن شدن بافت فیلم‌های خوراکی و در نتیجه سبب پراکنش نور و کاهش شفافیت در این گونه فیلم‌های خوراکی می‌گردد. در مورد هیدروسل های گیاهی به علت ماهیت محلول در آب و عدم وجود چربی، تغییر در شفافیت کمتر رخ می‌دهد. البته نمونه‌های حاوی هیدروسل نسبت به نمونه شاهد شفافیت کمتری دارند که به علت وجود ترکیبات مختلف از جمله در هیدروسل‌های گیاهی است (Labaddie *et al*., 2016).

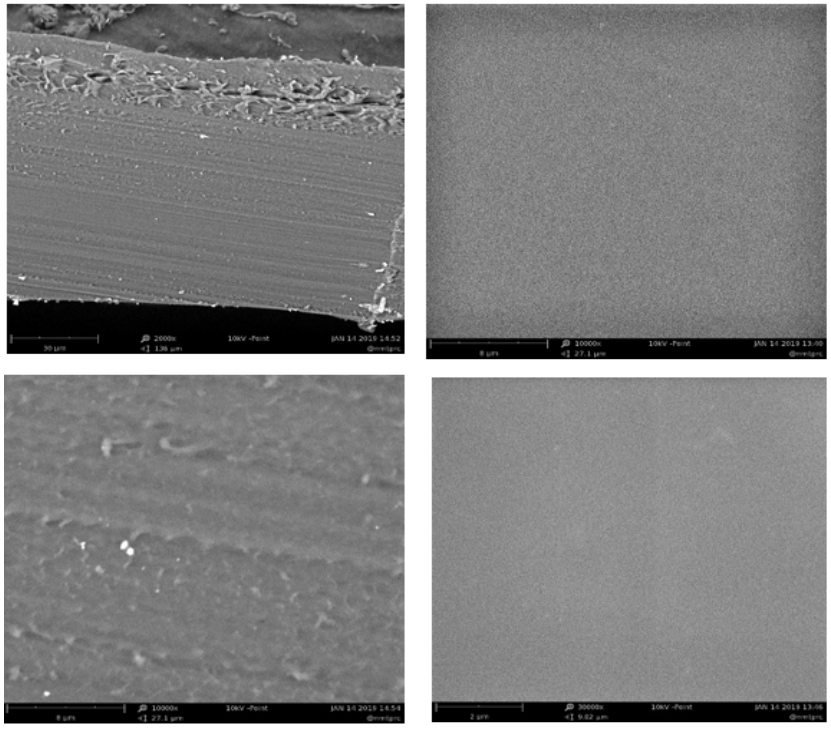
تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

شکل‌های 3 و 4 تصاویر میکروسکوپ روبشی در بزرگنمایی 10000 و 30000 ربوط به فیلم‌های ژلاتینی را نشان می‌دهد. بررسی این تصاویر، نشان داد که در هر دو نمونه (نمونه شاهد و نمونه حاوی 100% هیدروسل زردچوبه) بافت همگن و یکنواختی وجود دارد. در واقع افزودن هیدروسل زردچوبه به فرمولاسیون فیلم ژلاتینی اثری بر یکنواختی بافت نداشته است. بررسی مقطع عرضی فیلم‌ها نیز مؤید این مطلب است.

ماهیت محلول در آب بودن هیدروسل سبب می‌شود افزودن هیدروسل در ساختار فیلم ژلاتینی یکنواختی بافت فیلم را به‌طور چشمگیری تحت تأثیر قرار ندهد در حالی که استفاده از اسانس‌های گیاهی، سبب تغییرات قابل توجهی در ساختار فیلم‌های خوراکی می‌گردد. مطابق گزارش استفاده از اسانس زنجبیل در فرمولاسیون فیلم خوراکی ژلاتین/ کیتوزان سبب ایجاد غیریکنواختی در ساختار فیلم شده است که علت آن نامحلول بودن اسانس‌های گیاهی در آب است (Bonila *et al*., 2018). ولی ماهیت محلول در آب هیدروسل این تغییرات را در بافت فیلم ایجاد نمی‌کند (Labaddie *et al*., 2016).



شکل 3- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نمونه فیلم ژلاتینی شاهد. سمت راست تصاویر سطحی و سمت چپ تصاویر مقطع عرضی.

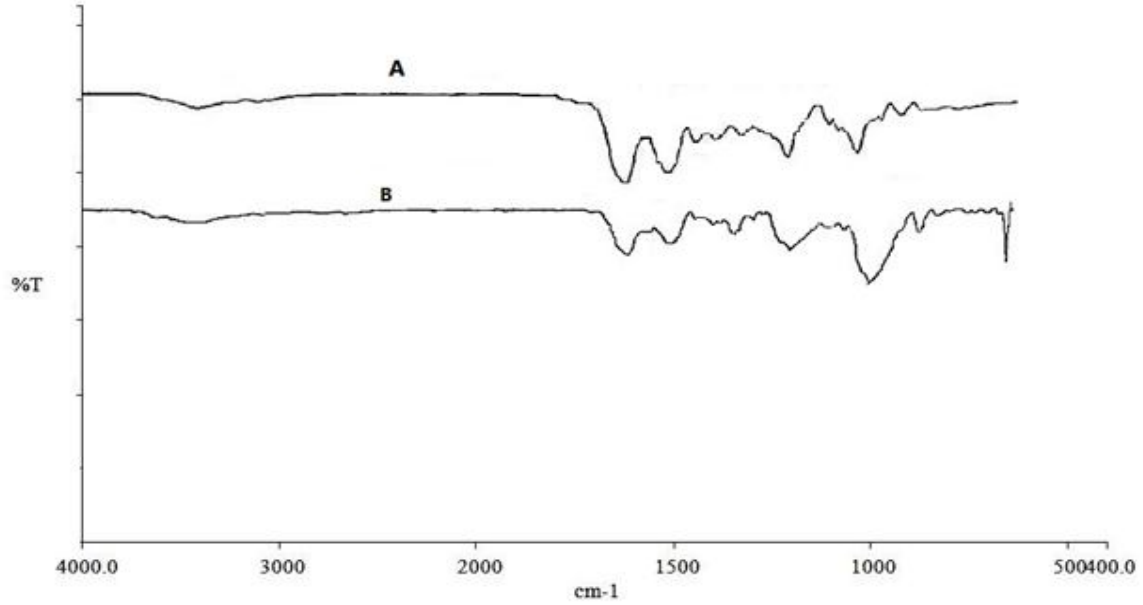


شکل 4- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نمونه فیلم ژلاتینی حاوی 100% هیدروسل زردچوبه. سمت راست تصاویر سطحی و سمت چپ تصاویر مقطع عرضی

طیف سنجی مادون قرمز فوریه

به‌منظور بررسی برهم کنش‌ها و پیوندهای موجود در نمونه‌های فیلم ژلاتینی، طیف سنجی مادون قرمز فوریه بر روی نمونه شاهد و نمونه حاوی هیدروسل زردچوبه انجام شد.

طیف‌سنجی مادون قرمز فوریه مربوط به فیلم ژلاتینی شاهد نشان داد که یک پیک در طول موج $1036\ cm^{-1}$ وجود دارد که این پیک احتمالاً مرتبط با وجود پلاستی‌سایزر گلیسرول در ساختار فیلم ژلاتینی و وجود گروه هیدروکسیل مربوط به گلیسرول است و تشکیل پیوند هیدروژنی بین این گروه هیدروکسیدی با ساختار فیلم خوراکی ژلاتین است. پیک ایجاد شده در طول موج $1239\ cm^{-1}$مربوط به آمین حلقوی اولیه و پیوند C-N آمید نوع سوم است. پیک در طول موج $1452\ cm^{-1}$ مربوط به OH در ساختار ژلاتین است. پیک $1630\ cm^{-1}$ مربوط به پیوندهای C=C و C=O می‌باشد (Bonilla *et al*., 2018). افزودن هیدروسل سبب ایجاد تغییراتی در طیف مادون قرمز فیلم ژلاتینی می‌گردد.



شکل5- طیف‌سنجی مادون قرمز فوریه. A: نمونه شاهد B: فیلم ژلاتینی حاوی 100% هیدروسل زردچوبه.

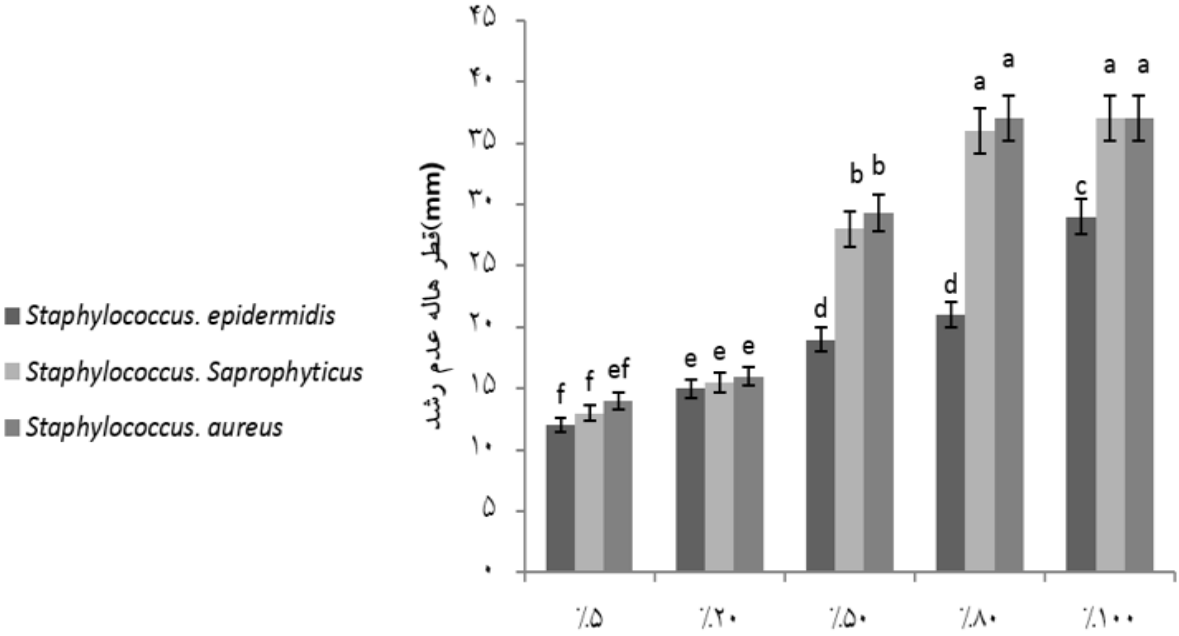
در فیلم ژلاتینی حاوی هیدروسل زردچوبه، پیک ایجاد شده در $1500cm^{-1}$ مربوط به پیوندهای آروماتیک C-C است. (Goni *et al*., 2016). سایر پیک‌های مشاهده شده در طیف مادون قرمز فوریه مربوط به فیلم ژلاتینی حاوی هیدروسل شامل پیک‌های ظاهر شده در طول موج 3500 مربوط به پیوندهای CO-H ، طول موج $1500cm^{-1}$ مربوط به پیوندهای C-C، پیک طول موج $913\ cm^{-1}$ مربوط به پیوندهای $C-CH_2$ است (Bonilla *et al*., 2018). ظاهر شدن پیک در طول موج $680\ cm^{-1}$ مربوط به ترکیبات آروماتیک و حلقوی است (Schwartz. 2008) ظاهر شدن این پیک در فیلم ژلاتینی حاوی هیدروسل زردچوبه می‌تواند مربوط به وجود ترکیبات آروماتیک و حلقوی در هیدروسل زردچوبه باشد. وجود انواع ترکیبات آروماتیک در هیدروسل‌های مختلف گیاهی گزارش شده است(Labadie *et al*., 2016).

بررسی خاصیت ضدمیکروبی فیلم ژلاتینی

نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضدمیکروبی فیلم ژلاتینی در شکل 6 نشان داده شده است. سه گونه *استافیلوکوکوس* مورد بررسی، حساسیت متفاوتی نسبت به فیلم‌های ژلاتینی حاوی هیدروسل استخراجی زردچوبه نشان دادند به‌طوری که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* بود ($p\leq 0/01$). *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* نیز به فیلم‌های ژلاتینی حاوی هیدروسل زردچوبه حساسیت مشابهی نشان داد ولی *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، مقاومت بیشتری نسبت به فیلم ژلاتینی حاوی زردچوبه داشت به طوری‌که در غلظت‌های کمتر از 100%، قطر هاله رشد کمی ایجاد شد (شکل 6).

زردچوبه جزء یکی از گیاهان غنی از ترکیبات پلی‌فنلی می‌باشد. این گیاه دارای طیف گسترده از اثرات بیولوژیکی و فارماکولوژیکی نظیر آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی است که عمده این خواص به ترکیبات پلی‌فنل موجود در زردچوبه نسبت داده شده است. از جمله

مهم‌ترین این ترکیبات، ترکیبات کورکومینوئیدی موجود در گیاه زردچوبه است (بهرامی و همکاران، 1392).



شکل 6- قطر هاله عدم رشد (mm) در فیلم‌های ژلاتینی حاوی درصد مختلف هیدروسل استخراجی زردچوبه .

اثرات ضدمیکروبی هیدروسل استخراجی گیاهان مختلف گزارش شده‌اند. هیدروسل بهارنارنج در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژنوزا*، *اشرشیاکلی*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا انتریکا*، *باسیلوس سرئوس*، *کاندیدا آلبیکانس* ، *آسپرژیلوس براسیلینس* بررسی گردیده و مشخص شده است اثر بازدارندگی بر این میکروارگانیسم‌ها داشته است (Labadie *et al*., 2016). هیدروسل استخراجی گیاه *Nepeta nepetella* اثر ضدمیکروبی قوی در برابر *کلبسیلا پنومونی*، *انتروکوکوس فکالیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتلیس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* نشان داده است. مطابق این پژوهش باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی نشان داده‌اند و *باسیلوس سرئوس* بیشترین حساسیت را نشان داده است (Bellahsene *et al*., 2015; Karampoula *et al*., 2016).

نتیجه‌گیری

هیدروسل استخراجی زردچوبه سبب ایجاد اثرات ضدمیکروبی بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* در فیلم ژلاتینی می‌گردد. استفاده از این نوع هیدروسل در ساختار فیلم ژلاتینی سبب کاهش نفوذ پذیری نسبت به بخار آب به میزان 28% گردید. خصوصیات مکانیکی فیلم ژلاتینی نیز تحت تأثیر هیدروسل قرار می‌گیرد به‌طوری که سبب افزایش تنش کششی و کاهش درصد کش آمدن می‌گردد. شفافیت نیز در فرمولاسیون فیلم ژلاتینی حاوی هیدروسل تا حدودی کاهش می‌یابد ولی میزان ممانعت نسبت به اشعه ماورابنفش، افزایش نشان داد. بررسی های میکروسکوپی یکنواختی بافت فیلم ژلاتینی حاوی هیدروسل را نسبت به نمونه شاهد نشان داد.

منابع

بهرامی م، افشاری ز، احمدی ف، محیطی م ج، جلالی خان آبادی ب، مرادی ع. ارزیابی محتوای پلی فنولی عصاره آبی الکلی زردچوبه در ایران با روش سینگلتون. *مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد*. 1392؛ 21(3): 281-290.

فلاح حسینی ح، زحمتکش م، حقیقی م. مروری بر کاربرد گیاه زردچوبه (*Curcuma longa L.*) در طب سنتی و مدرن. *فصلنامه گیاهان دارویی*. 1388؛ 9(1): 15-1.

محمدی ن، میر حسینی م، شیرزاد م، دهقان همدان ع، یزدانی کشکولی ن. سنتز نانوذرات اکسید روی با استفاده از روش آسیاکاری پرانرژی و بررسی خاصیت ضد میکروبی آن. *مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد*. 1394؛ 23) (4): 2082-2070.

مرادیان ایوری ع ا، صالحی م، ملک جعفریان م. اثر ضد میکروبی عصاره متانولی رزماری بر *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به ونکومایسین جدا شده از بیماران بیمارستان امام رضا در مشهد. *مجله دانشکده علوم پزشکی نیشابور* 1394؛ 3 (3): 45-39.

Alparslan, Y., Hasanhocao glu Yapıcı, H., Metin, C., Baygar, T., Günlü, A., Baygar, T. 2016. Quality assessment of shrimps preserved with orange leaf essential oil incorporated gelatin. *LWT - Food Science and Technology* 72 : 457-466.

ASTM (1995). Standard test method for water vapour transmission of materials. Standard designations: E96-95. Annual book of ASTM standards. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials406–413.

ASTM. 2001. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Standard D882. ASTM, annual book of ASTM (pp. 162-170). *Philadelphia:* ASTM.

Bellahsene, C., Bendahou, M., Khadir, A., Zenati, F., Bendelaïd, F., Aissaoui, N., Muselli, A., Costa, J. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil and hydrosol extract of *Nepeta nepetella* subsp. amethystina (Poir.) Briq from Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2015;5: 21-25.

Belabbes, R., El Amine Di, M., Djabou, N., Ilias, F., Tabti, B., Costa, J., Muselli, A. Chemical variability, antioxidant and antifungal activities of essential oils and hydrosol extract of *Calendula arvensis L.* from western Algeria. *Chemistry and Biodiversity*.2017; 14.

Bonilla, J., Poloni, T., Lourenço, R.V., Sobral, P.J.A. Antioxidant potential of eugenol and ginger essential oils with gelatin/Chitosan films. *Food Bioscience* 2018; 107-114.

D'Amato, S., Serio, A., Lopez, C. C., Paparella, A. Hydrosols: Biological activity and potential as antimicrobials for food applications. *Food Control*. 2018; 86: 126-137.

Ghani, S., Barzegar, H., Noshad, M., Hojjati, M. The preparation, characterization and in vitro application evaluation of soluble soybean polysaccharide films incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsions. *International Journal of Biological Macromolecules* 2018; 112 197–202.

Goñi, M. L., Gañán, N. A., Strumia, M. C., & Martini, R. E. Eugenol-loaded LLDPE films with antioxidant activity by supercritical carbon dioxide impregnation. *Journal of Supercritical Fluids*. 2016; 111: 28–35.

Jamróz, E., Juszczak,L., Kucharek, M. Investigation of the physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of ternary potato starch-furcellaran-gelatin films incorporated with lavender essential oil. International *Journal of Biological Macromolecules* 2018; 114: 1094–1101.

Kaewprom, K., Chen, Y-H., Lin, CF., Ming-Tang Chiou, M.T., Chao-Nan Lin, C-N. Antiviral activity of *Thymus vulgaris* and *Nepeta cataria* hydrosols against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*. 2017; 47(1): 25-33.

Karampoula, F., Giaouris, E., Deschamps, J., Doulgeraki, A. I., Nychas, G.-J. E& ,. Dubois-Brissonnet, F. Hydrosol of Thymbra capitata is a highly efficient biocide against biofilms of *Salmonella Typhimurium*: Real-time visualization of bacterial inactivation by CLSM. *Applied and Environmental Microbiology*. 2016; 82:5309-5319.

Kim, H., Beak, S-E., Bin Song, K.B., Development of a hagfish skin gelatin film containing cinnamon bark essential oil. LWT - *Food Science and Technology* 2018; 96: 583–588.

Labadie, C., Cerutti, C., Carlin, F. Fate and control of pathogenic and spoilage micro-organisms in orange blossom (*Citrus aurantium*), and rose flower (*Rosa centifolia*) hydrosols. *Journal of Applied Microbiology*. 2016; 121:1568-1579.

Martuccia, J.F. Gendeb, L.B. Neiraa, L.M. Ruseckaite**.** R.A. Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. *Industrial Crops and Products* 2015; 71: 205–213

Nisara, T., Wanga,Z-C., Yanga,X., Tiana,Y., Iqbalb, M., Guoa, Y. Characterization of citrus pectin films integrated with clove budessential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties International *Journal of Biological Macromolecules* 2018; 106: 670–680

Ozturk, L., Tornuk, F., Caliskan-Aydigan, O., Zeki Durak, M., & Sagdiç, Ö. Decontamination of iceberg lettuce by some plant hydrosols. LWT- *Food Science and Technology* 2016; 74: 48-54.

Sazedul Hoque, Md., Benjakul, S., Prodpran, T. Properties of film from cuttlefish (Sepia pharaonis) skin gelatin incorporatedwith cinnamon, clove and star anise extracts. *Food Hydrocolloids* 2011; 25: 1085-1097.

Silveira Hornung P, Masisi K, Nkhata Malunga L, Beta T, Hoffmann Ribani R. Natural bioactive starch film from Amazon turmeric (Curcuma longa L.). *Polymer Bulletin* 2018; 75(10): 4735-4752.

Shahbazi.Y. Application of carboxymethyl cellulose and chitosan coatings containing *Mentha spicata* essential oil in fresh strawberries. *International Journal of Biological Macromolecules* 2018; 112: 264–272.

Sharma, N., Jandaik, S., Kumar, S., Chitkara, M., Singh Sandhu, I. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of manganese- and iron-doped zinc oxide nanoparticles. *Journal of Experimental Nanoscience*.2015; 11(1): 54-71.

Shen, X., Chen, W., Zheng, Y., Lei, X., Tang, M., Wang, H., Song, F. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrosols from different parts of Areca catechu L. and Cocos nucifera L. *Industrial Crops and Products* 2017; 96: 110-119.

Tongnuanchan, P., Benjakul, S., & Prodpran, T. Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. *Food Chemistry* 2012; 134:1571-1579.

Tongnuanchan, P., Soottawat Benjakul, S., Prodpran, T. Structural, morphological and thermal behavior characterizations of fish gelatin film incorporated with basil and citronella essential oils as affected by surfactants. *Food Hydrocolloids* 2014; 41: 33-43**.**

Tongnuanchan, P., Benjakul,S., Thummanoon Prodpran, T., Pisuchpen,S., Osako**.** K. Mechanical, thermal and heat sealing properties of fish skin gelatin film containing palm oil and basil essential oil with different surfactants. *Food Hydrocolloid*s 2016; 56: 93-107.

Wu, J, Sun,X., Guo,X., Ge,S., Zhang, Q. Physicochemical properties, antimicrobial activity and oil release of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil. *Aquaculture and Fisheries* 2017; 2: 185-192.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 453-463

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 463-453

Investigation of mechanical, physical and antibacterial gelatin film incorporated by Turmeric (*Curcuma longa*) hydrosol

Z. Didar[1*]

Received: 2018.08.26
Accepted: 2019.04.14

Introduction: Nowadays, edible packaging founds great attention due to environmental issues related to synthetic packaging materials. Gelatin is one of the most commonly ingredients used in edible packaging formulation due to its good barrier properties against gases and UV irradiation. Addition of plant extracts or essential oils is one approach for confer antimicrobial activity to edible films. The aim of this study was to use different percentages (5-100%) of turmeric hydrosol in the formulation of edible gelatin films and assessing the various properties of the resulted film.

Materials and methods: Extraction of turmeric hydrosol was done by Clevenger apparatus. Separation of the essential oil from hydrosol was done by a separating funnel. For preparation of gelatin films, 4g gelatin was dissolved in 100ml distilled water, and glycerol as plasticizer was added at ratio of 25w/w gelatin. In gelatin films included turmeric hydrosol, substitution of turmeric hydrosol instead of distilled water in the ratio of 5-100% was performed. Then, the mixture was poured in plexiglass plates (80×120 mm) and dried at 22ºC, 50% RH for 48h.Texture analysis was carried out using the texture analyzer TA-XT plus. The water vapor permeability (WVP) was measured using gravimetrically method. Light transmission was determined by spectrophotometer jenway 6305 at 200-800 nm wavelength. Morphological assessment was performed by scanning electron microscope (phenom proX). For Fourier-transform infrared spectroscopy analysis, Perkin-Elmer (Spectroma2 model) at 4000-4500 cm^{-1} frequency, used. Antimicrobial test was done by measurement inhibitory zone (mm) of edible films against *Staphylococcus aureus* (PTCC 1112), *Staphylococcus saprophyticus* (PTCC 1440) and *Staphylococcus epidermium* (PTCC 1435).

The studied bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* and *Staphylococcus epidermium*) were purchased from the Iranian Scientific and Industrial Research Center and transferred to the suitable medium in sterile condition and incubated at 37°C for 32 hours. Microbial cells were harvested by centrifugation at 4000 rpm. For the estimation of microbial population, McFarland turbidity method was applied. First, the results from comparing turbidity showed the population of microorganisms was equal to 0/5 McFarland solution (approximately $1/5\times10^8$ CFU/ml), then for reaching to the desired microbial population ($1/5 \times 10^6$ CFU/ml), dilution with physiological saline was done. Agar disc diffusion method was used for assessing the antimicrobial effect of the gelatin films.

Gelatin films were cut into a 10mm diameter in aseptic condition using a circular knife and then placed on agar plates inoculated with 100µL of tested bacteria (with approximately 10^6 CFU/mL). The plates were then incubated (37ºC, 24h). The diameter of the inhibition zone was precisely measured using a digital micrometer (Guanglu model 701-211). Each experiment was performed triplicate.

Results and discussion: The results of this study showed that the use of turmeric hydrosol causes significant difference on mechanical and physical properties of related gelatin films ($p\leq0.01$). The stress tension was increased by adding hydrosol to the edible film formulation, but the elongation percentage of the edible film decreased. The highest the stress tension was observed in sample containing 100% hydrosol (33.3 Mpa) but the lowest elongation percentage also was belong to this sample (96%). Addition of hydrosol to film formulation cause increasing of UV-radiation barrier property and reducing the transparency of the film. FTIR analysis of gelatin films included turmeric hydrosol, exhibited the existence of aromatic bonds according to appearing peak at 680cm^{-1}.

Structural studies by SEM method, showed uniformity in the structure of different gelatin films and hydrosol addition cause minor changes in the structure of films. The water vapor permeability was influenced by the edible film formulation and by adding different percentages of turmeric hydrosol, the permeability to water vapor, decreased ($p\leq0.01$).Thickness was also affected by gelatin formulation and hydrosol caused reduction the thickness. Antimicrobial assessments showed that the addition of turmeric hydrosol cause inhibitory effects against studied *staphylococcus* strains. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus saprophyticus* showed the highest susceptibility to hydrosol included films (inhibition zone equal to 37 mm for gelatin film included 100% turmeric hydrosol).

Keywords: Hydrosol, Turmeric, Packaging, Antimicrobial activity.

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Azad University, Neyshabur
(* Corresponding author E-mail: zdidar57@gmail.com)

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 465-475

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 475-465

مدل‌سازی سفتی بافت و سینتیک خشک شدن میوه "به" در خشک‌کن همرفتی مادون قرمز توسط شبکه عصبی مصنوعی

امیر گیتی‌بان کلجاهی[1]- نارملا آصفی[2*]

تاریخ دریافت: 1397/08/08
تاریخ پذیرش: 1397/01/31

چکیده

"به" یکی از میوه‌های سرشار از مواد معدنی و ویتامین بوده و یکی از راه‌های نگهداری این محصول خشک کردن می‌باشد. امروزه شبکه‌های عصبی مصنوعی در مدل‌سازی پارامترهای خشک کردن در حال رشد و توسعه است. پژوهش حاضر با هدف مدل‌سازی سفتی بافت و زمان خشک شدن میوه به توسط شبکه عصبی انجام گردید. آزمایش‌های خشک کردن توسط خشک کن همرفتی مادون قرمز در سه توان 400، 800 و 1200 وات و جریان هوای ثابت 0/5 متر بر ثانیه تا رسیدن به رطوبت ثابت 22% بر پایه مرطوب، خشک گردید. به‌منظور مدل‌سازی از شبکه عصبی چندلایه (MLP) با توابع آستانه مختلف، تعداد نورون مختلف و الگوریتم آموزش لونبرگ – مارکوارت برای آموزش شبکه‌ها استفاده گردید. نتایج نشان داد که شبکه عصبی با ساختار (2-7-3) با توابع آستانه لگاریتمی با ضریب تعیین (0/9980 و 0/9867) به‌ترتیب برای زمان خشک شدن و سفتی بافت و مقدار میانگین مربعات خطا (0/008881 و 0/0009693) در مقایسه با سایر ساختارهای شبکه، نتایج بهتری را ارائه می‌کند.

واژه‌های کلیدی: میوه "به"، زمان خشک کردن، سفتی بافت، مدل‌سازی، شبکه عصبی مصنوعی

مقدمه

با توجه به این که خشکبار یکی از پر اهمیت‌ترین صادرات غیرنفتی می‌باشد باید در جهت رشد و شکوفایی اقتصاد کشور از طریق افزایش صادرات به بازارهای جهانی این محصول تلاش فراوان شود. در این میان میوه "به" حاوی مواد معدنی مختلف از جمله آهن، فسفر، کلسیم، پتاسیم و غنی از ویتامین هایی نظیر ویتامین A، C و ویتامین‌های گروه B می‌باشد. به دلیل داشتن محتوی رطوبتی بالا میوه "به" سرعت فاسد می‌گردد که یکی از راه‌های افزایش ماندگاری این محصول خشک کردن می‌باشد (Silva *et al*.,2004). خشک کردن مواد غذایی، یکی از روش‌های نگهداری آنها است. طی این فرآیند، حذف رطوبت از طریق انتقال همزمان حرارت و جرم صورت می‌گیرد. با انتقال حرارت از محیط به ماده غذایی، انرژی گرمایی موجب تبخیر رطوبت سطحی می‌شود. عملیات خشک کردن تاثیر زیادی بر کیفیت محصول و قیمت آن می‌گذارد (توکلی‌پور، 1380). آبگیری اسمزی می‌تواند به‌عنوان پیش تیمار جهت آبگیری اولیه میوه‌ها قبل از خشک شدن مورد استفاده قرار گیرد (امام جمعه و همکاران، 1384). هدف اصلی از آبگیری اسمزی به حداقل رساندن صدمه به بافت سلولی و انتقال آب در زمان کوتاه در مقایسه با سایر روش‌های خشک کردن است (سلیمانی و همکاران، 1386). برای بهبود ویژگی‌های محصول خشک شده و کاهش زمان مورد نیاز فرآیند، می‌توان از اشباعیت اسمزی تحت خلاء به‌عنوان پیش تیمار، قبل از فرآیند خشک کردن استفاده کرد (Tortoe, 2010). عوامل مختلفی از جمله نوع و غلظت محلول اسمزی، دما، مدت زمان فرآیند و ویژگی‌های مواد اولیه مورد استفاده بر آبگیری اسمزی میوه‌ها و سبزی‌ها تاثیرگذار هستند (Ozdemir *et al*.,2008). در سال‌های اخیر روش‌های نوین که باعث افزایش نرخ خشک شدن گردیده، کیفیت محصول را بهبود داده است، مورد توجه قرار گرفته است. خشک کردن با سامانه مادون قرمز یکی از آنها است. مادون قرمز امواج الکترومغناطیسی با طول موج 700 نانومتر تا 1 میلی متر را شامل می‌شود. از مزایای استفاده از امواج مادون قرمز به حداقل رساندن ضایعات و جلوگیری از افت ویژگی‌های کیفی محصول به دلیل کاهش زمان خشک شدن را بوده است (Meeso *et al*., 2004). لازمه پیش‌بینی کیفیت محصول در هر فرآیند، مدل‌سازی و کشف رابطه بین عواملی است که می‌توانند بر کیفیت خروجی فرایند تاثیرگذار باشند. مدل‌های ساخته شده وضعیت محصول در طول فرآیند خشک کردن را

1 و2- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه مهندسی علوم وصنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

(* - نویسنده مسئول: Email: n.asefi@iaut.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.76323

بر اساس پارامترهایی مانند زمان، دما، محتوی رطوبتی بیان می‌کنند (Bonazzi *et al*., 2011) شبکه‌های عصبی مصنوعی به‌عنوان یک الگوریتم فرا ابتکاری در زمینه مدل‌سازی و پیش‌بینی، مورد توجه بسیار قرار گرفته است که این محبوبیت را می‌توان به توانایی این شبکه‌ها در زمینه مدل‌سازی و پیش بینی در مورد فرآیندهای پیچیده، تشخیص نوسانات غیر تصادفی در داده‌ها (Togrul *et al*., 2004)، قابلیت پیش بینی تغییرات پارامتر مورد نظر با حداقل پارامترها (Bowers *et al*., 2000) دانست که موجب شده تا این الگوریتم فرا ابتکار بر دیگر روش‌های کلاسیک مدل‌سازی و پیش‌بینی از جمله رگرسیون برتری یابد.

تا کنون پژوهش‌های متعددی در زمینه کاربرد شبکه‌های عصبی صورت گرفته است. گروهی از محققین تعیین شرایط بهینه با روش سطح پاسخ و مقایسه دو روش شبکه عصبی مصنوعی و رگرسیون در خشک کردن سیب زمینی پرتودیده با اشعه گاما را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد شبکه عصبی با ضریب تعیین 0/9704 دارای قابلیت بسیار بیشتری در پیش‌بینی نسبت به مدل رگرسیون بود (Yousefiyan *et al*., 2016). در تحقیقی دیگر به‌کارگیری روش شبکه‌های عصبی مصنوعی در بررسی و تخمین برخی مشخصه‌های خشک کردن بادمجان و شلغم در یک خشک کن ترکیبی مایکروویو همرفتی مورد ارزیابی قرار گرفت نتایج نشان داد که شبکه عصبی پس انتشار پیش‌خور و پیشرو با توابع آستانه لونبرگ- مارکوارت و تنظیم بیزی با چیدمان 2-20-20-3 توانست ضریب پخش رطوبت موثر و انرژی مصرفی ویژه را به‌ترتیب با ضرایب تبیین 0/9821 و 0/9952 و خطای میانگین مربعات 0/00014 در شرایط مختلف خشک کردن بادمجان و شلغم را پیش‌بینی نماید (Kaveh, 2016). هدف از این تحقیق، مطالعه تاثیر پیش تیمار اشباعیت تحت خلاء بر تغییرات میزان سفتی باف و زمان خشک شدن اسلایس‌های میوه "به" طی خشک شدن با امواج مادون قرمز، مدل‌سازی به وسیله شبکه عصبی مصنوعی و انتخاب بهترین مدل پیش‌بینی کننده این تغییرات بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، میوه"به" (رقم و واریته اصفهان) محصول ممتاز باغات اصفهان خریداری گردید و قبل از انجام آزمایشات در سرد خانه بالای صفر نگهداری شد.

آبگیری اسمزی تحت خلا

میوه‌های "به" یک ساعت قبل از فرآوری از یخچال خارج شده و در دمای محیط قرار گرفتند. پس از شستشو، رطوبت سطحی توسط کاغذ جاذب رطوبت گرفته شد و به اسلایس‌هایی (4× 35× 35) میلی‌متر تبدیل شدند. نمونه‌ها تحت پیش تیمارخلاء (خلا به مدت 5 ساعت فشار مطلق 70 میلی‌بار در دمای 40 درجه) به همراه محلول اسمزی (ساکارز با غلظت 30 درصد به مدت 5 ساعت در دمای 25 درجه) قرار گرفتند.

خشک کردن نمونه‌ها

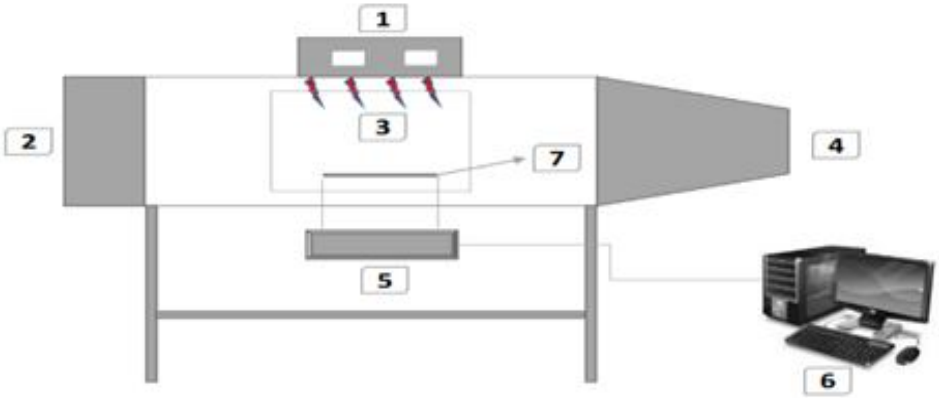
برای خشک کردن نمونه‌ها از یک خشک‌کن همرفتی مادون قرمز با سه توان (400، 800 و 1200 وات) و سرعت هوای ثابت 0/5 متر بر ثانیه مطابق شکل (1) استفاده شد. به این صورت که نمونه‌های مورد آزمایش در زیر لامپ‌های مادون قرمز روی ظروفی که از توری ساخته شده بود قرار گرفتند و وزن نمونه‌ها در بازه زمانی 10 دقیقه توسط ترازو اندازه‌گیری شده و در رایانه ثبت گردید. به‌منظور حصول شرایط پایدار در سیستم، خشک کن 30 دقیقه قبل از فرآیند روشن شد. فاصله نمونه‌ها تا لامپ مادون قرمز در همه تیمارها ثابت 16 سانتی‌متر بود. عمل خشک کردن تا رسیدن به میزان رطوبت 0/22 بر مبنای مرطوب ادامه یافت.

اندازه‌گیری سفتی بافت

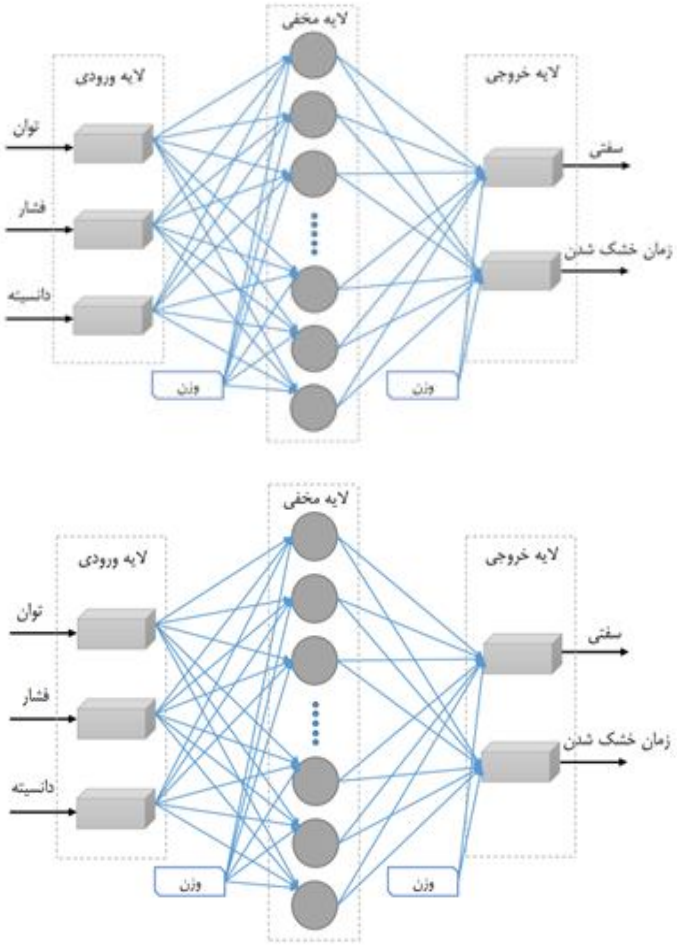
برای انجام آزمون سفتی بافت (Puncture Tests) برش‌های "به" از دستگاه آنالیزکننده بافت (LFRA-4500، Brookfield، آمریکا) استفاده شد. برای انجام آزمون ابتدا هر یک از نمونه‌ها با ابعاد مشخص برش خورده و سپس زیر پروب دستگاه قرار گرفتند. در این آزمون پروب نمونه را سوراخ می‌کند برای این آزمون لازم است صفحه زیر نمونه، سوراخ‌دار باشد تا پروب پس از سوراخ کردن نمونه بتواند از آن رد شود. در این تست پروب در یک سیکل رفت و برگشت با سرعت 0/7 میلی‌متر بر ثانیه نمونه را سوراخ و میزان پایین آمدن پروب 10 میلی‌متر اعمال شد. برای این آزمون لازم است سطح مقطع نمونه‌ها از سطح مقطع پروب (2 میلی‌متر) کوچکتر باشند، همچنین ابعاد پروب برای همه نمونه‌ها یکسان در نظر گرفته شد تا مقایسه نتایج در شرایط برابر انجام شود.

مدل‌سازی شبکه عصبی مصنوعی

از قابلیت شبکه‌های عصبی مصنوعی می‌توان به مدل‌سازی تغییرات کیفیت محصول در طول فرآیند خشک کردن اشاره نمود. هر شبکه عصبی از لایه‌های: ورودی، میانی یا مخفی و خروجی تشکیل شده است. در لایه اول یا ورودی، تعداد نرون به تعداد عوامل اولیه و در لایه خروجی به تعداد عوامل نهایی مورد نظر، بستگی دارد. لایه مخفی می‌تواند از یک یا چندین لایه تشکیل شود که تعداد نرون‌های هر لایه آن متغیر است و عموماً به روش سعی و خطا تعیین می‌شود. با توجه به اینکه در مدل‌سازی شبکه عصبی تعیین ماتریس ورودی و خروجی بسیار مهم است، ابتدا داده‌ها فراخوانده شده و سپس برای هر تیمار عمل میانگین‌گیری صورت پذیرفت (خوش تقاضا و همکاران، 1394).



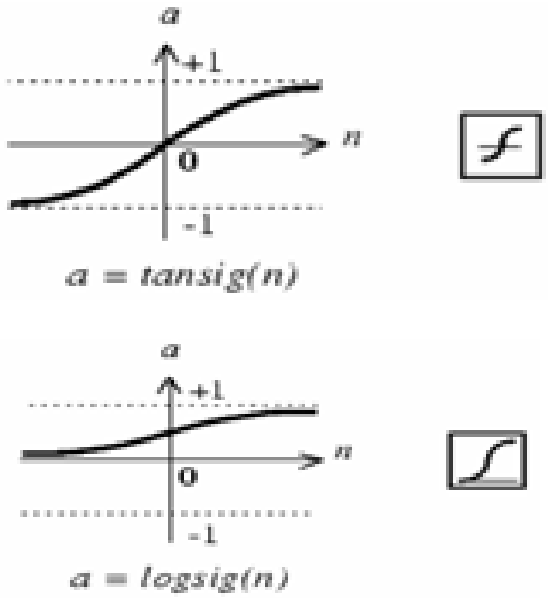
شکل 1- شماتیک خشک کن مورد استفاده: (1) ورودی هوا؛ (2) فن؛ (3) گرمکن؛ (4) تابلو فرمان یا محفظه کنترل کننده دما، توان خشک کن، رطوبت سنج و سرعت هوا؛ (5) سینی سوراخ دار؛ (6) ترازوی دیجیتال؛ (7) لامپ های مادون قرمز؛ (8) سرعت سنج دیجیتالی هوا؛ (9) خروجی هوا.



شکل 2- شماتیک شبکه عصبی مصنوعی

در ادامه شکل 2 ساختار شبکه عصبی مورد استفاده در مدل‌سازی میزان سفتی بافت و زمان خشک شدن برش¬های میوه "به "را نشان می‌دهد. به‌منظور مدل‌سازی این پارامترها در فرآیند خشک کردن، از نتایج حاصل از بررسی کیفیت نمونه¬ها شامل: میزان سفتی بافت و همچنین مدت زمان خشک شدن به‌عنوان خروجی¬های شبکه استفاده شد. و پارامترهای توان، غلظت و فشار به‌عنوان ورودی‌های شبکه در نظر گرفته شدند. در این پژوهش از شبکه چندلایه پرسپترون (MLP) استفاده شد. این مدل به علت سادگی و در عین حال دقت بالا، کاربرد زیادی در مدل‌سازی خشک شدن محصولات کشاورزی دارد. توابع زیادی در انتقال اعداد از لایه قبل به لایه بعد ممکن است مورد استفاده قرار گیرند .(Tripathy et al., 2008)

توابع آستانه مختلفی چون سیگموئیدی (logsig) و لگاریتمی (tansig) و الگوریتم‌های آموزش همراه با نظارت مانند لونبرگ-مارکوارت (lm)، پس انتشار ارتجاعی (rp)، شیب توام مقیاس شده (scg, cgb) که همه این الگوریتم‌ها حالت‌های خاصی از الگوریتم پس انتشار هستند استفاده و نتایج آنها مقایسه شد (شکل 3).



شکل 3- توابع آستانه مورد استفاده در شبکه عصبی مصنوعی

فرآیند یادگیری و انتخاب بهترین تابع عملکرد شبکه

در ابتدا الگوهای ورودی شبکه نرمال‌سازی شده و سپس به‌صورت تصادفی به سه گروه آموزش (70%)، ارزیابی (15%) و آزمون (15%) تقسیم‌بندی شدند. همچنین نرخ آموزش (lr) به روش آزمون و خطا برای تمامی حالات 0/2 و میزان مومنتوم 0/1 در نظر گرفته شد. الگوریتم مورد نیاز برای شبیه‌سازی شبکه عصبی با استفاده از نرم‌افزار MATLAB R2015b توسعه داده شد. معیارهای ارزیابی پایانی که به منظور بررسی قدرت پیش‌بینی مدل عصبی فرآیند انتخاب شده‌اند، عبارتند از: الف) ضریب تعیین (R^2) بین مقادیر خروجی واقعی و مقادیر پیش بینی شده توسط شبکه، ب) شاخص میانگین مربعات خطا (MSE) که میانگین مربعات خطاهای محاسبه شده از مقادیر واقعی و مقادیر پیش بینی شده را نشان می‌دهد و طبق روابط 1 و 2 محاسبه می‌شوند .(Mohebbi *et al.*, 2008)

$$R = \sqrt{1 - \frac{\sum_{i=1}^{n}[O_i - T_i]^2}{\sum_{i=1}^{n}[O_i - T_m]^2}} \quad (1)$$

$$MSE = \frac{\sum_{i=1}^{n}(O_i - T_i)^2}{N} \quad (2)$$

در این رابطه‌ها، O_i مقدار پیش بینی شده به‌وسیله شبکه عصبی مصنوعی برای الگوی i ام. T_i مقدار هدف (آزمایشی) برای الگوی iام، T_m میانگین مقادیر پیش‌بینی شده و N تعداد داده‌ها آموزشی است.

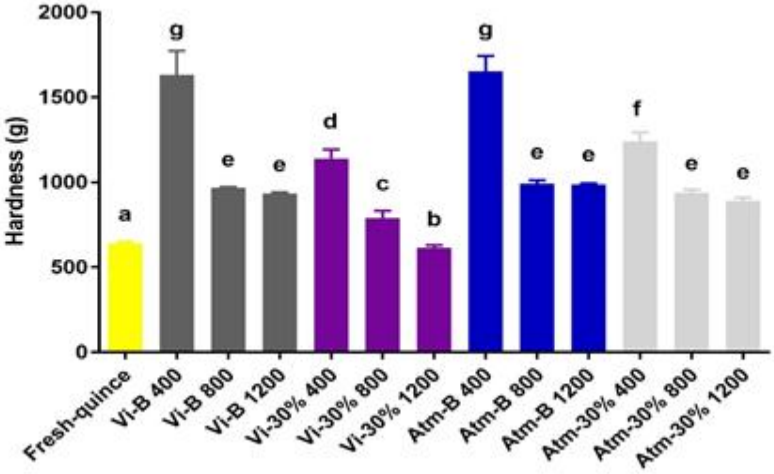
بهترین عملکرد زمانی است که R^2 مقداری نزدیک به 1 داشته باشد و مقدار صفر برای R^2 نشان‌دهنده آن است که مقادیر خروجی برآورد شده توسط مدل به مقادیر واقعی خروجی نزدیک نمی‌باشد همچنین هرچه MSE مقادیر کمتری داشته باشد نشان‌دهنده آن است که مدل با خطای کمتری نسبت به پیش‌بینی مقادیر خروجی اقدام می‌نماید.

نتایج و بحث

میزان سفتی بافت

شکل 4، بیانگر آن است سفتی بافت در نمونه‌های اسمزی تیمار شده با خلاء با افزایش توان کاهش می‌یابد. به‌طوری که کمترین میزان سفتی مربوط به نمونه اسمزی که در شدت 1200 وات خشک شده می‌باشد. با افزایش توان مادون قرمز سفتی بافت کاهش پیدا کرد، علت

این امر احتمالا پدیده افزایش حجم باشد که طی تبخیر سریع رطوبت توسط اشعه مادون قرمز از داخل بافت رخ می‌دهد. نمونه اسمزی خشک شده تحت خلاء در توان 1200 وات در بین کل تیمارها دارای بافتی نرم تر، همچون محصول تازه می‌باشد.



شکل 4- تاثیر پیش تیمارها بر میزان سفتی بافت

مدت زمان خشک شدن

جدول 1 نشان می‌دهد که در شروع فرآیند خشک کردن، به علت بالا بودن رطوبت اولیه محصول نرخ از دست دادن رطوبت زیاد است. به تدریج با پیشرفت زمان و کاهش رطوبت اولیه محصول نرخ کاهش رطوبت به‌طور طبیعی کاهش می‌یابد. در توان‌های پایین‌تر مدت زمان خشک شدن بیشتر است و با افزایش توان، زمان خشک شدن به علت افزایش شیب حرارتی در داخل محصول و در نتیجه افزایش سرعت تبخیر رطوبت محصول کاهش پیدا می‌کند. این نتایج با تحقیقات سایر محققان مطابقت داشت (Adak *et al.*, 2017; Ozdemir *et al.*, 2017).

جدول 1- اثر پیش تیمارهای مورد استفاده بر زمان خشک شدن

تیمار	زمان خشک شدن (دقیقه)
Vi-B 400	120
Vi-B 800	63
Vi-B 1200	40
Vi-30% 400	100
Vi-30% 800	53
Vi-30% 1200	34
Atm-B 400	180
Atm-B 800	106
Atm-B 1200	57
Atm-30% 400	165
Atm-30% 800	87
Atm-30% 1200	50

شبکه عصبی مصنوعی

برای بررسی عملکرد شبکه پرسپترون چندلایه از توپولوژی‌های مختلف با تعداد نرون‌های متفاوت مورد استفاده قرار گرفت. این

توپولوژی‌ها کاملاً به‌صورت سعی و خطا انتخاب شدند. پس از آموزش شبکه با توجه به الگوریتم‌های یادگیری مختلف بهترین چیدمان شبکه بر اساس دو معیار R و MSE از میان توپولوژی‌های دیگر تعیین گردید. جدول 2، خلاصه‌ای از بهترین نتایج مدل‌سازی شبکه عصبی مصنوعی را نشان می‌دهد.

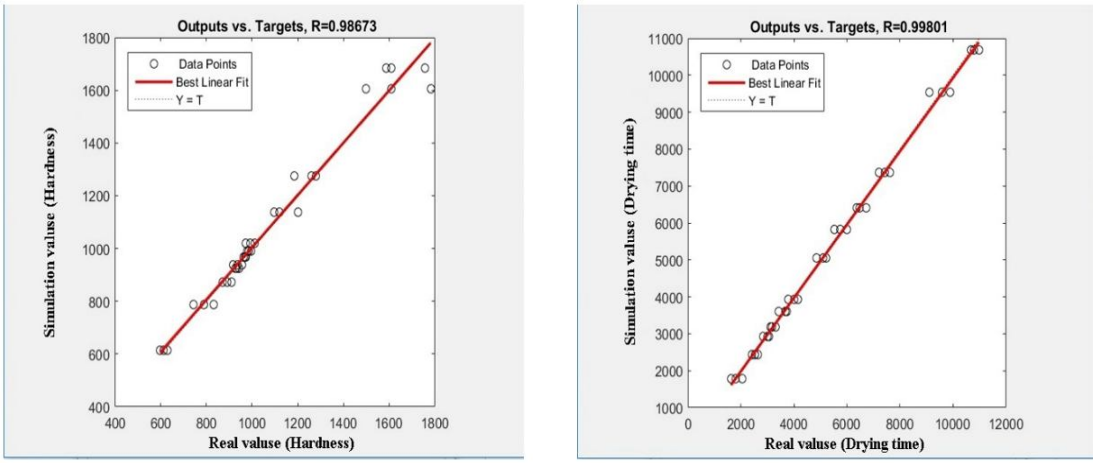
جدول 2- نتایج ساختارهای مختلف شبکه عصبی مصنوعی جهت پیش بینی پارامترهای سفتی بافت و زمان خشک شدن

تابع آستانه	الگوریتم آموزشی	تعداد نورون در لایه پنهان	سفتی بافت(g) R	سفتی بافت(g) MSE	Epoch	زمان شبیه‌سازی (sec)	تعداد نورون در لایه پنهان	زمان خشک شدن(ثانیه) R	زمان خشک شدن(ثانیه) MSE	Epoch	زمان شبیه‌سازی (sec)
Tan	Lm	17	0/9770	0/015626	50	15/99	17	0/9804	0/215373	23	**30/84**
Log	Lm	7	0/9867	0/000969	206	13/74	7	0/9980	0/008881	31	**15/51**
Tan/Log	Lm	9	0/9702	0/001818	62	11/24	6	0/9767	0/261814	38	**17/32**
Tan	cgb	13	0/9817	0/086923	43	24/86	10	0/9864	0/192215	43	**18/62**
Log	cgb	10	0/9857	0/004168	105	20/42	22	0/9806	0/154061	39	**22/70**
Tan/Log	cgb	20	0/9810	0/001654	93	24/18	16	0/9791	0/349757	21	**14/81**
Tan	Rp	14	0/9705	0/014944	52	10/59	17	0/9717	0/250848	24	**25/95**
Log	Rp	14	0/9715	0/013367	50	10/65	7	0/9786	0/381046	40	**12/56**
Tan/Log	Rp	12	0/9833	0/015578	160	9/47	14	0/9844	0/355371	56	**11/38**
Tan	Scg	12	0/9631	0/002519	183	10/46	24	0/9828	0/274136	110	**21/83**
Log	Scg	7	0/9823	0/001421	69	12/06	7	0/9890	0/173838	45	**14/23**
Tan/Log	Scg	4	0/9842	0/001992	58	24/11	12	0/9874	0/255315	86	**10/58**

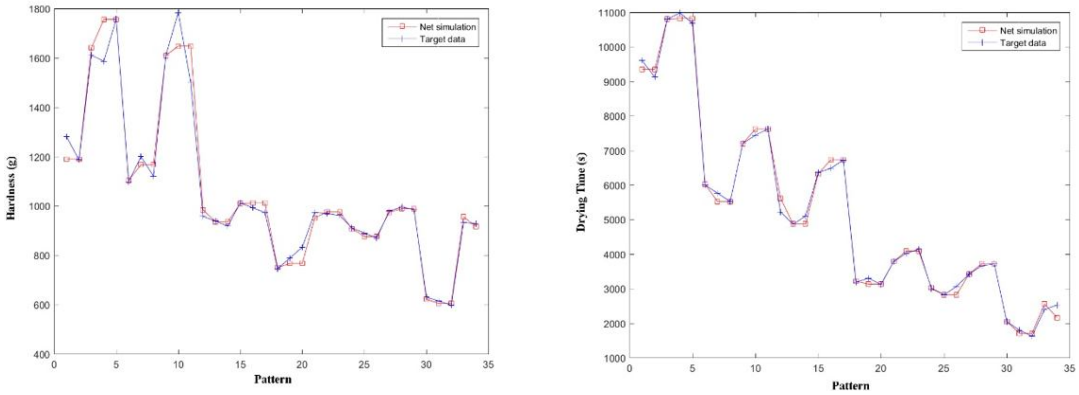
نتایج حاصل از به‌کارگیری شبکه عصبی در پیش‌بینی میزان سفتی بافت و زمان خشک شدن با 142 داده ورودی به شبکه نشان داد که بهترین توپولوژی با چیدمان 2-7-3 (3 نرون در لایه ورودی، 7 نرون در لایه پنهان و 2 نرون در لایه خروجی) الگوریتم آموزش لونبرگ- مارکوارت (lm) تابع آستانه لگاریتمی (Log) با تعداد تکرارهای (206 و 31) حاصل گردیده است. همان طور که در جدول فوق مشاهده می‌شود ساختار شبکه عصبی با یک لایه پنهان با تعداد 7 نورون، دارای ضریب همبستگی بالاتر و میزان خطای کمتری نسبت به سایر ساختارهای شبکه عصبی می‌باشد. مدت زمان همگرا شدن شبکه عصبی مورد نظربه‌ترتیب (13/74 و 15/51) ثانیه برای سفتی بافت و زمان خشک شدن می‌باشد که بیانگر قابلیت بالای شبکه عصبی مصنوعی در پیش‌بینی این تغییرات است. ضریب همبستگی (R) چیدمان‌های مذکور که هر دو پارامتر میزان سفتی و زمان خشک شدن را در بر می‌گیرد به‌ترتیب برابر با 0/9867 و 0/9980 است. همانطور که در شکل 5، مشاهده می‌شود همه نقاط حول یک خط راست 45 درجه با ضریب تبیین بالا بسیار بالا قرار گرفته‌اند. با توجه به شکل مذکور می توان دریافت که داده‌های آزمایشی و داده‌های حاصل از مدل شبکه عصبی بسیار به هم نزدیک بوده به‌طوری که منحنی‌های هر دو سری داده روی یکدیگر منطبق شده اند و بیانگر همبستگی و همپوشانی بسیار خوب مقادیر پیش بینی شده توسط شبکه در مقابل مقادیر واقعی است.

شکل 6، انطباق مقدار پیش‌بینی شده توسط شبکه عصبی با مقادیر واقعی مربوط به بهترین توپولوژی‌ها را نشان می‌دهد. در این شکل می‌توان مشاهده کرد که انطباق خوبی بین خروجی‌های حاصل از شبکه و خروجی‌های حاصل از آزمایش مشاهده می‌شود به این صورت که یکسان‌ترین مقدار پیش بینی شده نسبت به مقدار واقعی در شرایط آزمایشگاهی، مربوط به شماره الگوهای 18 و24 بوده است در این الگو تفاوت هر دو مقدار بسیار ناچیز است

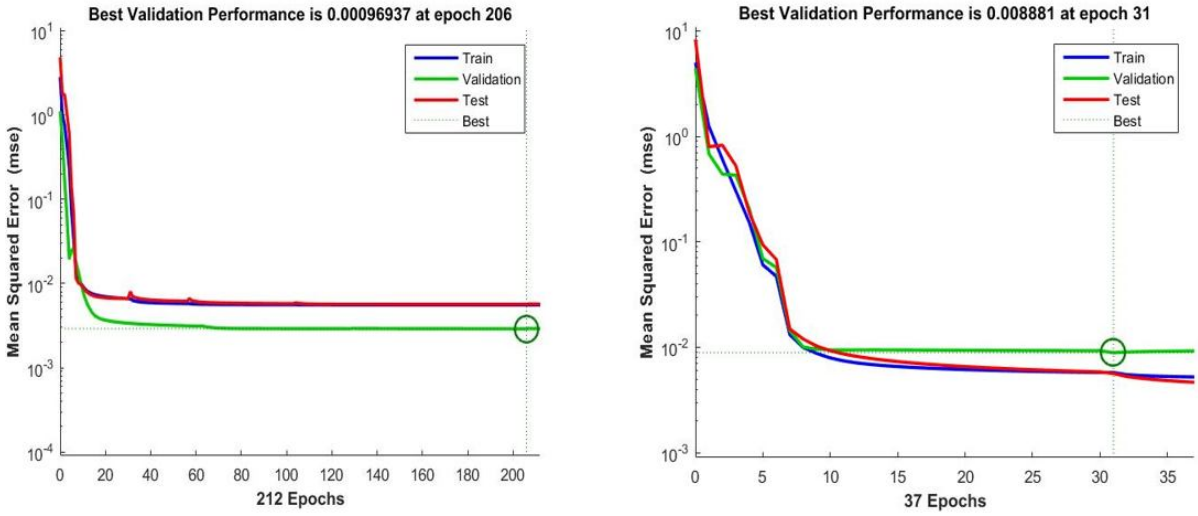
در شکل7، روال آموزش در صورتی که خطای مجموعه ارزیابی در 8 تکرار متوالی افزایش یابد، متوقف می‌شود. این توقف در تکرارهای (206 و 31) رخ داده است. همان‌طور که مشاهده می¬شود خطای میانگین مربعات مقدار کوچکی است و خطای مجموعه آموزش، ارزیابی و آزمایش دارای رفتار مشابهی هستند و بهترین کارایی شبکه در مورد داده های ارزیابی به وقوع پیوسته است و هیچ بیش برازشی رخ نداده است.



شکل 5- میزان دقت پیش‌بینی مقادیر پارامترها توسط بهترین شبکه آموزش دیده با مقادیر واقعی

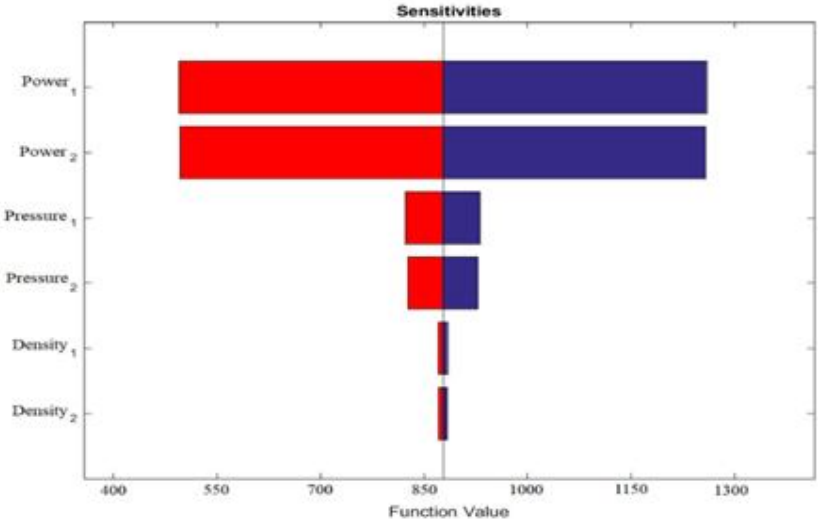


شکل 6- انطباق مقادیر پیش‌بینی شده توسط شبکه عصبی آموزش دیده با مقادیر واقعی



شکل7- روند آموزش شبکه عصبی در بهترین چیدمان با افزایش دوره یادگیری

شکل 8، اثر پارامترهای ورودی نسبت به پارامترهای خروجی شبکه را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود اثر توان امواج مادون قرمز بیشتر از سایر پارامترهای ورودی به شبکه است. با توجه به شبکه عصبی انتخاب شده جهت پیش‌بینی سفتی بافت و زمان خشک شدن اسلایس‌های میوه "به" که به‌صورت 2-7-3 می‌باشد، ماتریس وزن برای بردار ورودی به لایه پنهان یک ماتریس هیسن 3× 7 (اتصال سه نرون ورودی به 7 نرون لایه پنهان) همچنین ماتریس وزن مربوط به لایه پنهان به لایه خروجی به صورت ماتریس هسین 7×2 (اتصال 7 نرون لایه پنهان به 2 نرون لایه خروجی) خواهند بود. علاوه بر این ماتریس بایاس برای بردار ورودی به لایه پنهان به‌صورت یک ماتریس هیسن 1× 7 و همچنین بردار بایاس لایه پنهان به لایه خروجی نیز به‌صورت یک ماتریس هیسن 1×1 برای هر پارامتر می‌باشد.



شکل 8- اثر پارامترهای ورودی نسبت به پارامترهای خروجی شبکه عصبی

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که مدل شبکه عصبی مصنوعی به‌عنوان یک ابزار قدرتمند می‌تواند پارامترهای سفتی بافت و زمان خشک شدن را با دقت بالایی تخمین بزند. مناسب‌ترین ساختار شبکه عصبی جهت پیش‌بینی پارامترهای مذکور با توپولوژی 2-7-3 به همراه توابع فعال‌سازی لگاریتمی با ضریب تبیین کل بالاتر از 0/9923 بهترین نتایج را ارائه نموده است. همچنین با افزایش توان خشک‌کن و استفاده از آبگیری اسمزی تحت خلا مدت زمان خشک شدن و سفتی بافت نمونه ها کاهش پیدا کرده می‌کند.

منابع

Adak, N., Heybeli, N., and Ertekin, C. 2017. Infrared drying of strawberry. *Journal of Food Chemistry*, 219, 109-116.

Bonazzi, C., and Dumoulin, E. 2011. Quality Changes in Food Materials as Influenced by Drying Processes. Modern Drying Technology Volume 3: Product Quality and Formulation, First Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Bowers, J.A., and Shedrow, C.B. 2000. Predicting stream water quality using artificial neural networks. WSRC-MS-2000-00112.

Emam Jomeh, Z., and Alaedini, B. 2005. Improvement of dry kiwi indexes and their formulation using osmotic pre-process. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 36, 1421-1427.

Khosh Taghaza, M., Hosein Zadeh, B., Fayazi, A., and Amirnejat, H. 2005. Prediction of Moisture Content Drying of Thin Fungal Layer by Artificial Neural Networks after Release. *Quarterly Journal of Food Science and Technology*, 50, 171-182.

Meeso, N., Nathakaranakule, A., Madhiyanon, T. H., and Soponronnarit, S. 2004. Influence of FIR irradiation on paddy moisture reduction and milling quality after fluidized bed drying. *Journal of Food Engineering*, 65, 293-301.

Mohebbi, A., Taheri, M., and Soltani, A. 2008. A neural network for predicting saturated liquid density using a genetic algorithm for pure and mixed refrigerants. *International Journal of Refrigeration*, 31 (8), 1317–1327.

Ozdemir, M.B., Aktas, M., Sevik, S., and Khanlari, A. 2017. Modeling of a convective-infrared kiwifruit drying process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42, 18005-18013.

Ozdemir, M., Ozen, B.F., Dock, L.L., and Floros, J.D. 2008. Optimization of osmotic dehydration of diced green peppers by response surface methodology, *Food Science and Technology*, 26, 1-7.

Silva, B.M., Andrade, P.B., Martins, R.C., Valentao, P., Ferreres, F., Seabra, R.M., and Ferreira, M.A. 2004. Quince (*Cydonia oblonga Miller*) fruit characterization using principal component analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 111-122.

Soleimani, J., Emam Jomeh, Z., and Ghasem zadeh, H. 2007. Pre-treatment of hot-air dried carrots by osmotic dehydration. *Research and development in agriculture and horticulture*, 101-109.

Tavakolipour, H. 2001. Drying food principles and methods. Aizh Publishing, 1, 108-126.

Togrul, I. T., and Pehlivan, D. 2004. Modeling of thin layer drying kinetics of some fruits under open-air sun drying process. *Journal of Food Engineering*, 65, 413-425.

Tortoe, C. 2010. A review of osmodehydration for the food industry. *African Journal of Food Science*, 4(6), 303-324.

Tripathy, P.P., and Kumar, S. 2008. Neural network approach for food temperature prediction during solar drying. *International journal Thermal Sciences*, 48, 1452-1459.

Yousefiyan, H., Razdari, A.M., Sihoun, M., and Kiani, H. 2016. Determine the optimal conditions response surface method and compared with neural network and regression methods of drying potatoes irradiated with gamma rays. *Journal of Food Science and Technology*, 59(13), 1-12.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 465-475

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 475-465

Modeling of hardness and drying kinetics of "quince" fruit drying in an infrared convection dryer using the artificial neural network

A. Gitiban, N. Asefi

Received: 2018.10.30
Accepted: 2019.04.20

Introduction: Dried fruits are one of the most important non-oil exports and the efforts should be made to grow the economy of the country by increasing their exports to world markets. Meanwhile, quince juice contains various minerals including iron, phosphorus, calcium, potassium and rich in vitamins such as vitamins A, C and B vitamins. Drying of food is one of the ways to keep its quality and increase its shelflife. During this process, the removal of moisture through the simultaneous transfer of heat and mass occurs. By transferring heat from the environment to the foodstuff, the heat energy evaporates the surface moisture. The drying process has a great impact on the product. In recent years, new and innovative techniques have been considered that increase the drying rate and maintain the quality of the product and infrared drying is one of these novel techniques.. Infrared systems are emitting electromagnetic waves with a wavelength of 700 nm to 1 mm. The advantage of using infrared is to minimize waste and prevent product quality loss due to reduced drying time can be mentioned. The need to predict product quality in each process makes it necesary to model and discover the relationship between factors that can affect the final quality of the product. Artificial neural networks have been considered as a meta-innovative algorithm for modeling and prediction, which can be favored by the ability of these networks to model and predict processes The complexity and discovery of non-random fluctuations in data and the ability to discover the interactions between variables, economical savings in the use and disconnection of classical model abusive constraints (Togrul et al., 2004), the ability to reduce The effect of non-effective variables on the model by setting internal parameters is the ability to predict the desired parameter variations with minimum parameters (Bowers et al., 2000).

Materials and methods: In this research, quince fruit (Variety of Isfahan) was purchased as the premium product of Isfahan Gardens and was kept at 0°C in the cold room prior to further experiments. The fruits were removed from the refrigerator one hour before processing and exposed to ambient temperature. After washing, surface moisture was removed by moisture absorbent paper and turned into slices with a constant thickness of 4 mm. The specimens were subjected to pre-treatment with an osmotic solution (vacuum for 70 minutes at a temperature of 40 ° C for 5 hours). For drying the samples, an infrared convective dryer with three voltages (800.400 and 1200 watts) and a constant speed of 0.5 m / s was used. In this way, the samples were placed under infrared lamps on a plate made from a grid and the weight of the samples was measured in a scale of 10 minutes by means of a scale and recorded on the computer. In order to achieve stable conditions in the system, the dryer was switched on 30 minutes before the process. The distance between the samples and the infrared lamp was fixed in all treatments at 16 cm. The drying process continued to reach a moisture content of 0.22 basis. To perform a puncture tests, quince slices were used in a Brookfield-based American LFRA-4500 tissue analysis device. In order to model these parameters in the drying process, the results of examining the quality of the samples, including the firmness of the tissue as well as the drying time, were used as network outputs. The power, concentration and pressure parameters were considered as network inputs. In this research, a multilayer perceptron network (MLP) was used. Due to its simplicity and high precision, this model has a great application in modeling the drying of agricultural products. Many functions in transmitting numbers from the previous layer to the next layer may be used (Tripathy et al., 2008).

Result & discussion: The results indicated that the stiffness of the tissue is reduced in vacuum conditions with increased power. So, the least amount of stiffness was related to osmotic sample dried at 1200 watts. By increasing the infrared power, the stiffness of the tissue decreases, the reason for this is probably the volume increase phenomenon that occurs during the rapid evaporation of moisture through infrared rays from inside the tissue. The results showed that at the start of the drying process, due to the high moisture content of the product, the moisture loss rate is high. Gradually, with the advent of time and reduced initial moisture content, the rate of moisture reduction naturally decreases. At lower power, the drying time is longer and with increasing power, the drying time decreases due to the increase of the thermal gradient inside the product and consequently the increase in the rate of evaporation of the moisture content of the product. The results of this study showed that the neural artificial network, as a powerful tool, can estimate the stiffness parameters of the tissue and the drying time with high precision. The most suitable neural network structure to predict these

1 and 2. MSc Student and Assistant Professor, Food Science and Technology, Islamic Azad University Tabriz Branch
(* Corresponding author E-mail: n.asefi@iaut.ac.ir)

parameters with a 3-7-2 topology along with logarithmic activation functions with a total explanation coefficient above 0.9923 represent the best results. Also, by increasing the drying capacity and using osmotic dehydration, the drying time and the stiffness of the tissue samples is decreased.

Keywords: Artificial Neural Network, Hardness, Infrared Dryer, Osmotic dehydration, Quince fruit

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 477-484

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 484-477

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پکتین استخراج شده از پسماند بادمجان با استفاده از امواج فراصوت

محمّد نوشاد*[1]- محمّد امین مهرنیا[1]- نسیم دهقان[2]

تاریخ دریافت: 1397/12/11
تاریخ پذیرش: 1398/01/31

چکیده

در این پژوهش از امواج فراصوت جهت استحصال پکتین از ضایعات بادمجان (پوست و کلاهک) استفاده شد. برای این منظور اثر مدت زمان فراصوت (80-40 دقیقه) و نسبت حلال به ماده جامد (1:30- 1:10 میلی‌لیتر بر گرم) بر میزان راندمان استخراج و درجه استری شدن پکتین استحصال شده مورد بررسی قرار گرفت. از آزمون طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز FTIR و بررسی رفتار رئولوژیکی، ویژگی‌های عملکردی پکتین استحصال شده ارزیابی گردید. براساس نتایج به دست آمده، در نسبت حلال به ماده خشک (1:10 میلی‌لیتر بر میلی‌گرم) و مدت زمان 60 دقیقه بالاترین راندمان استحصال پکتین از پسماند بادمجان به‌دست آمد. بالاترین درجه استری شدن، در نسبت حلال به ماده خشک (1:20 میلی‌لیتر بر میلی‌گرم) و مدت زمان 60 دقیقه (0/1% ± 84/18) حاصل شد. همچنین، درجه استری شدن پکتین‌های به‌دست آمده بین 0/02 ±67/69 تا 0/1 ±84/18 درصد متغیر بود که نشان از کیفیت بالای پکتین استخراج شده است. نمودار FTIR، تمام پیوندها و پیک‌های مشخصه پکتین را نشان داد هم چنین پیک‌های موجود در نمودار FTIR، حاکی از وفور گروه‌های متوکسی در پکتین‌های استحصالی بود. محلول‌های پکتینی استحصال شده در این پژوهش، رفتار شل‌شونده با درجه برش از خود نشان داد.

واژه‌های کلیدی: امواج فراصوت، استخراج پکتین، درجه استریفیکاسیون، پسماند بادمجان.

مقدمه

پکتین پلی‌ساکاریدی است که در دیواره سلولی بافت‌های گیاهی وجود دارد و از پلی‌ساکارید به‌عنوان عامل ژله‌ای کننده، پرکننده و تثبت‌کننده در صنایع مختلف غذایی استفاده می‌شود. علاوه بر ویژگی‌های ذکر شده، پکتین با حبس آب در فیبر و تشکیل ژل، آب آزاد را از دسترس میکروارگانیسم‌ها خارج می‌کند که در نتیجه سبب افزایش ماندگاری مواد غذایی می‌شود. درجه استریفیکاسیون که بیانگر درصد گروه‌های کربوکسیل استری شده با متانول است، مهم‌ترین پارامتر تعیین کننده کاربرد پکتین در صنعت غذاست که بر اساس آن، پکتین به دو گروه پکتین با درجه استریفیکاسیون بالا (درجه استریفیکاسیون بالای 50 درصد) و پکتین با درجه استریفیکاسیون پایین (درجه استریفیکاسیون کمتر از 50 درصد) طبقه‌بندی می‌شود (Da Silva & Rao, 2006; Mohnen, 2008; Sharma *et al*, 2006). از متداول‌ترین روش‌های استخراج پکتین، استفاده از آب داغ به همراه اسیدهای معدنی است که این روش زمانبر بوده و همچنین دفع ضایعات این روش از نظر زیست محیطی مشکل‌زا است. بنابراین استفاده از روش‌های نوینی مانند امواج فراصوت به‌منظور به حداقل رساندن محدودیت‌های روش سنتی استخراج پکتین مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. استفاده از امواج فراصوت در فرآیند استخراج پکتین سبب کاهش مدت زمان استخراج و افزایش راندمان و بهبود ویژگی‌های کیفی پکتین استحصال شده می‌شود (Bagherian *et al*, 2011; Xu *et al*, 2014). Wang و همکاران (2015) از روش فراصوت برای استخراج پکتین از پوست گریپ فروت استفاده کردند. نتایج این پژوهش نشان داد، استفاده از روش فراصوت باعث افزایش 16/34 درصد راندمان استخراج و کاهش درجه حرارت و مدت زمان استخراج پکتین از پوست گریپ فروت در مقایسه با روش معمول شد. همچنین پکتین به‌دست آمده از این روش در مقایسه با روش معمول، دارای خلوص بیشتر و ویسکوزیته و درجه استری شدن کمتری بود (Wang *et al*, 2016).

1 و 2- به‌ترتیب استادیار و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

(* - نویسنده مسئول: Email: Noshad@asnrukh.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.79504

پسماند کارخانجات تولید آب سیب و مرکبات به‌عنوان مهم‌ترین منبع برای تولید پکتین در مقیاس تجاری است. با توجه به کاربرد و استفاده فراوان پکتین در صنعت غذا، امروزه پژوهشگران به دنبال یافتن منابع دید برای استحصال پکتین هستند که در این میان، استفاده از پسماند مواد غذایی مورد توجه زیاد قرار گرفته است زیرا دفع ضایعات و پسماندهای کارخانه‌های مواد غذایی از چالش‌های عمده تولیدکنندگان محصولات غذایی است، زیرا منجر به افزایش هزینه‌ها، آلودگی فضای کارخانه و محیط زیست می‌شود. این در حالی است که اکثر مواد ضایعاتی غنی از ترکیباتی هستند که به دلیل خواص تغذیه‌ای و تکنولوژیکی مناسب می‌توانند در فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی مورد استفاده قرار بگیرند (Santos *et al*, 2013; Seixas *et al*, 2014; Yapo *et al*, 2007).

بادمجان (Eggplant) گیاهی است بومی شرق هندوستان با نام علمی *Solanum melongena* متعلق به خانواده Solanaceae می‌باشد که میوه این گیاه به وفور در دنیا مورد مصرف قرار می گیرد. بر اساس آمار فائو میزان تولید این سبزی در سال 2016 حدود 51/3 میلیون تن بوده است. مهم‌ترین کشورهای تولیدکننده این سبزی، چین، هند، مصر، ترکیه و ایران هستند (FAO, 2018). پوست و کلاهک این محصول که به‌عنوان پسماند دور ریخته می‌شود، می‌تواند به‌عنوان یک منبع ارزشمند جهت استحصال پکتین استفاده شود (ناطقی و همکاران، 1396). بنابراین هدف از این پژوهش، استفاده از امواج فراصوت جهت استحصال پکتین از پسماند بادمجان و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پکتین استحصال شده بود.

مواد و روش‌ها

پسماندهای بادمجان قلمی (*Solanum melongena* L. var, depressum) از سلف سرویس دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان در دی ماه سال 1396 تهیه شد. پسماندها در آون با دمای 60 درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد. پسماندهای خشک شده با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی پودر و از الک با مش 60 عبور داده شد. پودر آسیاب شده تا زمان انجام آزمون در یخچال نگهداری شد.

استخراج و جداسازی پکتین

استخراج و جداسازی پکتین بر طبق روش Bagherian و همکاران (2011)، با اعمال تغییرات جزیی انجام شد. 40 گرم پودر پسماند بادمجان در یک ارلن با نسبت‌های 1:10، 1:20 و 1:30 (گرم بر میلی‌لیتر) با آب مقطر مخلوط شد. pH مخلوط با محلول 1 نرمال اسید هیدروکلریک بر عدد ثابت 2 تنظیم شد. فرآیند استخراج در یک حمام فراصوت (TransSonic TP 690-A, Elma, Germany) محتوی آب مقطر و در زمان های مختلف (۴۰،۶۰ و 80 دقیقه) و شدت صوت 70 درصد انجام گرفت. عصاره استخراج شده تا دمای محیط سرد و سپس توسط کاغذ صافی واتمن شماره 42 صاف شد. سپس pH عصاره را با محلول سود 2 نرمال به 3/5 رسانده و به نسبت حجمی 1 به 1/5 با اتانول 96 درصد مخلوط شد. رسوب به‌دست آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره 24 جدا شده و در دمای 40 درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید.

بازده استخراج پکتین

بازده میزان پکتین استخراج شده با استفاده از معادله 1 محاسبه شد(Kulkarni & Vijayanand, 2010).

(1) 100× (وزن پسماند بادمجان خشک شده (گرم)/وزن پکتین خشک شده نهایی (گرم))= بازده استخراج

اندازه‌گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته غلظت محلول‌های مختلف پکتین (0/1، 0/5 و 1 درصد) به‌وسیله یک ویسکومتر چرخشی مدل DV2TLVTJO در دمای اتاق اندازه‌گیری شد. حدود 25 میلی‌لیتر از هر نمونه به داخل استوانه ریخته شد و سپس نمودار ویسکوزیته در مقابل نرخ برشی رسم شد.

درجه استری شدن (DE)

اندازه‌گیری درجه استری شدن پکتین با استفاده از روش Bochek و همکاران (2001) انجام گرفت. 0/2 گرم از نمونه پودر پکتین در یک ارلن با 2/5 میلی لیتر اتانول 96% خیسانده و سپس 20 میلی‌لیتر آب مقطر 40 درجه سانتی‌گراد به آن اضافه و تا حل شدن کامل پکتین روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. سپس تیتراسیون با سود 0/1 نرمال در حضور معرف فنل فتالئین تا ظهور رنگ صورتی انجام گرفت. حجم سود مصرفی به‌عنوان تیتر خنثی شدن (v_1) یادداشت شد. به محلول خنثی شده مرحله اول، 10 میلی‌لیتر سود 0/1 نرمال اضافه و محتویات به مدت 2 ساعت هم‌زده شد. 10 میلی‌لیتر اسید کلریدریک اضافه و اسید اضافی با سود 0/1 نرمال تا ظهور رنگ صورتی تیتر و حجم مصرفی به‌عنوان تیتر صابونی شدن (v_2) یادداشت شد. و در نهایت درجه استری شدن پکتین از معادله 2 محاسبه شد.

$$DE\ (\%) = [V2/(V1 + V2)] \times 100 \qquad (2)$$

طیف‌سنج مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

از طیف‌سنج مادون قرمز فوریه (Tensor, Burker, Germany) در دامنه cm^{-1} (4000 –400) با تفکیک‌پذیری $4\ cm^{-1}$ برای تهیه طیف FTIR پکتین استحصال شده، استفاد شد (Ismail *et al*, 2012).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی صورت پذیرفت و از آنالیز واریانس یکطرفه برای تجزیه و تحلیل داده استفاده شد. از آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین داده‌ها در سطح احتمال 5 درصد با استفاده از نرم افزار SPSS (V.16) استفاده شد. تمامی آزمایش‌ها در سه بار تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

بازده استخراج

نتایج اثر افزایش مدت زمان استخراج بر میزان درصد استخراج پکتین در جدول 1، گزارش شده است. همان طور که در جدول 1، مشاهده می شود، افزایش مدت زمان استخراج تأثیر معناداری ($P<0/05$) بر میزان درصد استخراج پکتین داشت به‌طوری که افزایش مدت زمان استخراج از40 به 60 دقیقه سبب افزایش راندمان استخراج از 0/21 ±14/05 به 0/21 ±29/35 درصد شد که این امر احتمالا به این دلیل می‌باشد که پدیده کاویتاسیون باعث شکسته شدن دیواره سلولی و نفوذ بیشتر حلال به درون ماتریکس سلولی می‌شود که در نتیجه باعث افزایش میزان تراوش و استخراج پکتین می‌شود (مسیبی و همکاران، 1394). در حالی که افزایش مدت زمان استخراج از 60 به 80 دقیقه سبب کاهش راندمان استخراج 0/21±29/35 به 0/04±23/47 شد که احتمالا به دلیل هیدرولیز پکتین است. هم چنین براساس نتایج به دست آمده (جدول 1)، افزایش نسبت حلال به نمونه از 1:10 به 1:20 (میلی‌لیتر بر گرم) باعث افزایش راندمان استخراج شد در حالی که افزایش نسبت حلال به نمونه از 1:20 به 1:30 (میلی‌لیتر بر گرم) باعث کاهش میزان راندمان استخراج شد. این روند را می‌توان چنین تفسیر کرد که هر چه مقدار حلال نسبت به ماده خشک کمتر باشد با گذشت زمان ویسکوزیته حلال استخراج کننده افزایش می‌یابد و با توجه به این که پدیده کاویتاسیون در محلول‌های ویسکوز کمتر اتفاق می‌افتد همین امر دلیل کاهش راندمان استخراج پکتین در نسبت‌های پایین حلال به نمونه می‌شود. حال این که با افزایش میزان حلال، غلظت مواد جامد کاهش می‌یابد که همین امر سبب کاهش راندمان استخراج پکتین می‌شود (Minjares-Fuentes *et al*., 2014).

جدول 1- اثر نسبت ماده خشک به حلال و مدت زمان فراصوت‌دهی بر میزان راندمان استخراج پکتین

زمان (دقیقه)	نسبت ماده خشک به حلال		
	1-10	20-1	30-1
40	14/05± 0/21 cA	10/35± 0/21 cC	11/22± 0/02 cB
60	29/25± 0/21 aA	20/35± 0/21 aC	22/18± 0/04 aB
80	23/47± 0/04 bA	14/9± 0/14 bC	18/03± 0/24 bB

حروف بزرگ اختلاف معنی‌دار در سطر، حروف کوچک اختلاف معنی‌دار در ستون و حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد است.

درجه استریفیکاسیون

درجه استریفیکاسیون از مهمترین پارامترهای تعیین‌کننده کاربرد پکتین است. پکتین به دو دسته کم استر با درجه استری شدن کمتر از 50 درصد و پر استر با درجه استری بالا تقسیم می‌شوند (Sharma *et al*, 2006). در این پژوهش، درجه استری شدن پکتین به‌دست آمده از پسماند بادمجان بین 0/02 ±67/69 تا 0/1 ±84/18 درصد متغیر بود که نشان از کیفیت بالای پکتین استخراج شده است. با توجه به آن که پیوندهای استری در مقایسه با پیوندهای گلیکوزیدی نسبت به هیدرولیز اسیدی ناپایدارتر هستند، بنابراین بالاتر بودن درجه استریفیکاسیون، نشان‌دهنده آسیب کمتر به ساختار پکتین در طی فرآیند استخراج است. همچنین این پکتین‌ها در دسته پکتین‌های متوکسیل بالا (DE>%50) قرار می‌گیرد.

جدول 2- اثر نسبت ماده خشک به حلال و مدت زمان فراصوت‌دهی بر میزان درجه استریفیکاسیون

زمان (دقیقه)	نسبت ماده خشک به حلال		
	1-10	20-1	30-1
40	70/5± 0/7 bC	82/5± 0/03 bA	78/94± 0/08 bB
60	75/68± 0/04 aC	84/18± 0/1 aA	81/1± 0/14 aB
80	67/69± 0/02 cC	68/13± 0/01 cB	77/57± 0/03 cA

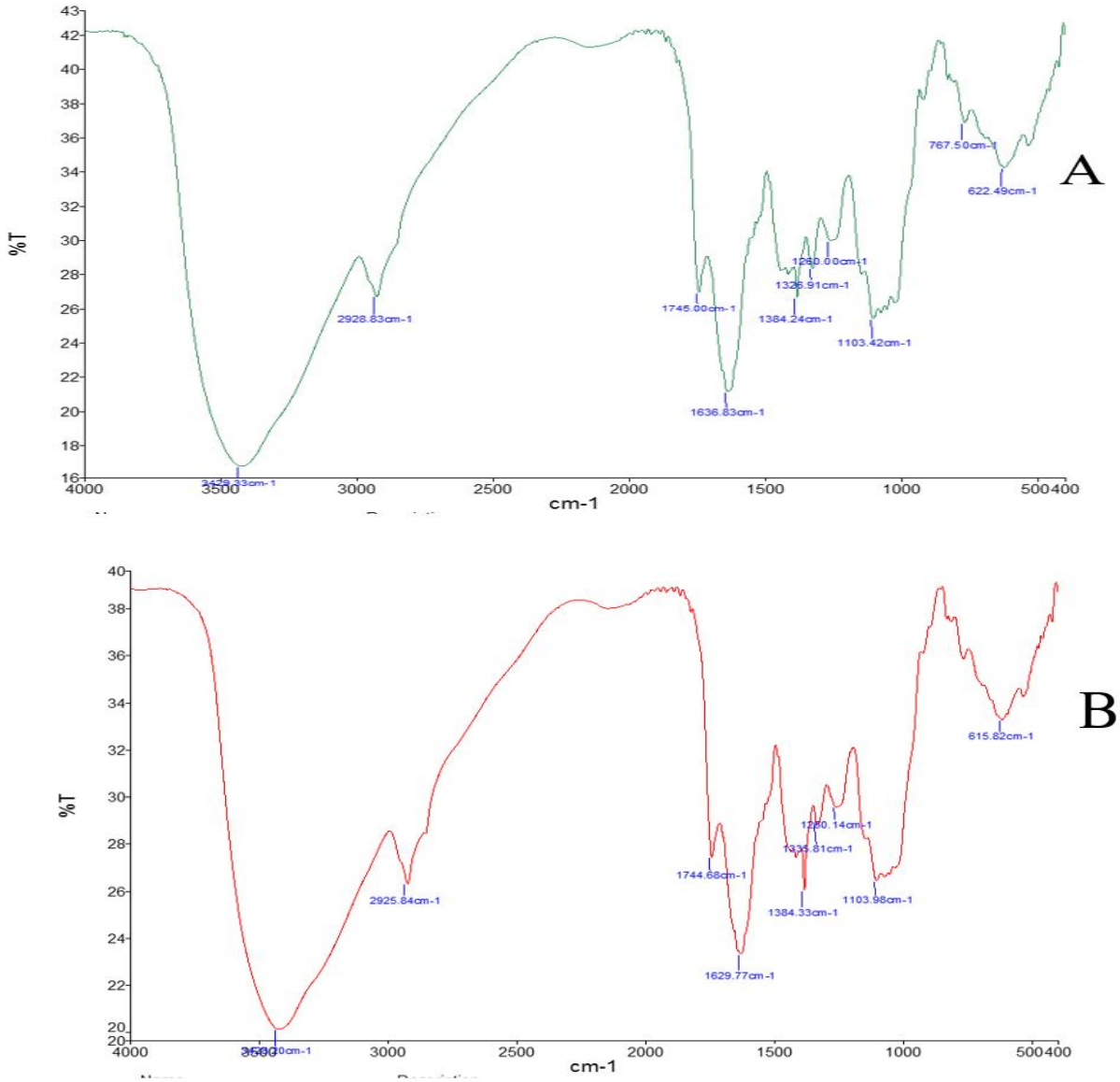
حروف بزرگ اختلاف معنی‌دار در سطر، حروف کوچک اختلاف معنی‌دار در ستون و حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد است.

با توجه به نتایج جدول 2، پکتین با بیشترین درجه استریفیکاسیون درنسبت حلال به ماده جامد (1:20) و مدت زمان 60 دقیقه و پکتین با کمترین درجه استریفیکاسیون در نسبت حلال به ماده جامد (1:10) و مدت زمان 80 دقیقه به‌دست آمد. ناطقی و انصاری (1396) بازده و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از کلاهک بادمجان به روش متداول (آب به‌همراه اسید) را به‌ترتیب 12/3 درصد و 15/43 درصد

گزارش کردند. همچنین انصاری و همکاران (1396)، بالاترین راندمان استخراج پکتین برای پوست بادمجان دردمای 90 درجه سانتی گراد به مدت 150 دقیقه را در حدود 28/3 درصد گزارش کردند که در این شرایط درجه استریفیکاسیون پکتین های استخراج شده 35/41 درصد بود.

FTIR

از روش‌های نوین بررسی ساختار پکتین، استفاده از طیف FTIR است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، این طیف تمام پیوندها و پیک‌های مشخصه پکتین را نشان می‌دهد؛ پیک عمده در محدوده 3200-3600 cm^{-1} گروه‌های متعدد OH را در ساختار پکتین نشان می‌دهد



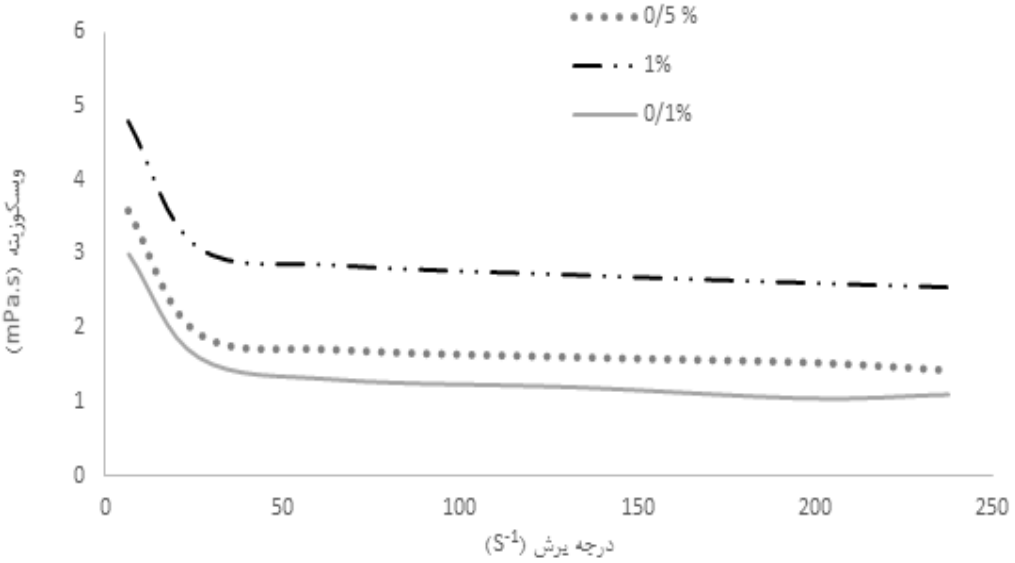
شکل 1- طیف FTIR مربوط به پکتین استخراج شده در شرایط، نسبت ماده خشک به حلال (1 به 20) و مدت زمان 60 دقیقه (A) و نسبت ماده خشک به حلال (1 به 10) و مدت زمان 80 دقیقه.

پیک مشخص در موج 1634 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی پیوند O-H و پیک 1446 مربوط به ارتعاشات خمشی پیوند C-O-C می‌باشد. پیک در موج 1261 ارتعاشات کششی مربوط به پیوند C-O-C بوده و حاکی از وفور گروه‌های متوکسی می‌باشد. پیک 1732 نیز ارتعاش کششی C=O را نشان می‌دهد که حاکی از حضور گروه‌های استیل در ساختار پکتین می‌باشد. همچنین، وجود پیک در ناحیه

cm^{-1} 1200-1000 به دلیل ارتعاشات متعدد پیوندهای C-O-C گلیکوزیدی و C=O مربوط به گالاکتورونیک اسید است. گستره عدد موج cm^{-1} 600-800 مشخصه کشش پیوندهای C-H گروه‌های متیل می‌باشد (Santos *et al*, 2013).

رفتار جریان

معمول‌ترین رفتار جریان برای محلول‌های پکتینی، رفتار شل‌شونده با درجه برش است که به دلیل جهت‌گیری زنجیره‌های پلیمری آن در راستای جهت جریان است یا به دلیل شکسته شدن پیوندهای فیزیکی ضعیف بین بیوپلیمرها است که همین امر سبب کاهش مقاومت این ماده در برابر جریان می شود (Panchev *et al*, 1989). ویسکوزیته ظاهری محلول پکتین استخراج شده با افزایش درجه برش از 0/5 تا S^{-1} 10 با شیب تند کاهش یافت در حالی که در درجه برش‌های بالا مقدار ویسکوزیته ظاهری محلول پکتین تقریبا ثابت باقی ماند (شکل 2). این روند نشان می‌دهد که محلول پکتین تولید شده در درجه برش‌های پایین دارای رفتار غیرنیوتنی از نوع شل‌شوندگی است در حالی که در درجه برش‌های بالا رفتار نیوتنی از خود نشان می‌دهد. رفتار شل‌شوندگی با افزایش درجه برش برای پکتین‌های استخراج شده از دیگر ترکیبات گیاهی مانند پالپ توت سیاه نیز گزارش شده است (Haminiuk *et al*., 2008). همچنین Chen و همکاران (2014) گزارش کردند، محلول پکتینی استخراجی از *Abelmoschus esculentus* در غلظت های کم رفتار نیوتنی از خود نشان داد. در حالی که افزایش غلظت سبب تغییر رفتار جریان از نیوتنی به شبه پلاستیک در نمونه‌ها شد (Chen *et al*, 2014). در پژوهشی ناطقی و همکاران (1396) رفتار جریان پکتین استخراج شده از کلاهک بادمجان را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد محلول پکتین به‌دست آمده از این محصول در تمامی غلظت‌ها (غلظت‌های کمتر و بیشتر از 1 درصد حجمی/ وزنی) دارای رفتار نیوتنی بود.



شکل 2- رفتار جریان محلول‌های پکتین استخراج شده در شرایط، نسبت ماده خشک به حلال (1 به 20) و مدت زمان 60 دقیقه.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر مدت زمان فراصوت (80-40 دقیقه) و نسبت حلال به ماده جامد (1:30- 1:10 میلی‌لیتر بر گرم) بر میزان راندمان استخراج پکتین و ویژگی فیزیکوشیمیایی پکتین استحصال شده ارزیابی شد. نتایج نشان داد، افزایش مدت زمان استخراج از40 به 60 دقیقه سبب افزایش راندمان استخراج از 0/21 ±14/05 به 0/21 ±29/35 درصد شد در حالی که افزایش مدت زمان استخراج از 60 به 80 دقیقه سبب کاهش راندمان استخراج 0/21 ±29/35 به 0/4 ±23/47 درصد شد. درجه استری شدن پکتین به‌دست آمده از پسماند بادمجان بین 0/02 ±67/69 به 0/1 ±84/18 درصد متغییر بود که نشان از کیفیت بالای پکتین استخراج شده است. همچنین این پکتین‌ها در دسته پکتین‌های متوکسیل بالا (DE>%50) قرار می‌گیرد. طیف FTIR تمام پیوندها و پیک‌های مشخصه پکتین را نشان داد و وجود پیک در موج cm^{-1} 1261 ناشی از ارتعاشات کششی مربوط به پیوند C-O-C است که حاکی از وفور گروه‌های متوکسی در ساختار پکتین است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، با استفاده از روش فراصوت می‌توان پکتینی با درجه استری شده بالا با رفتار شل‌شوندگی استخراج کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت تأمین اعتبار هزینه‌های مالی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

مسیبی،و. طباطبایی یزدی، ف. امام جمعه، ز. 1394. بهینه سازی شرایط استخراج پکتین به کمک امواج اولتراسونیک از تفاله شاه توت (*Morus nigra* L.). نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، 13(4): 610-594.

ناطقی،ل. انصاری، س. 1396. استخراج و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین استخراجی از ضایعات کلاهک بادمجان. فصل نامه فناوری های نوین غذایی، 5(2) 239-219.

ناطقی، ل. انصاری، س. شهاب لواسانی، ع. 1396. بررسی بازده و خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین استخراجی از ضایعات بادمجان.علوم و صنایع غذایی، 73 (14): 30- 73.

Bagherian, H., Ashtiani, F. Z., Fouladitajar, A. & Mohtashamy, M. (2011) Comparisons between conventional, microwave-and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11-12), 1237-1243.

Chen, Y., Zhang, J.-G., Sun, H.-J. & Wei, Z.-J. (2014) Pectin from Abelmoschus esculentus: Optimization of extraction and rheological properties. *International journal of biological macromolecules*, 70, 498-505.

Da Silva, J. L. & Rao, M. (2006) Pectins: Structure, Functionality, and Uses. *Food polysaccharides and their applications*, 354-372.

Haminiuk, C. W. I., Sierakowski, M.-R., Izidoro, D., Maciel, G. M., Scheer, A. P. & Masson, M. L. (2008) Effect of heat treatment on pectic fractions and apparent viscosity of whole Blackberry (Rubus spp.) Pulp. *International journal of food engineering*, 4(4).

Ismail, N. S. M., Ramli, N., Hani, N. M. & Meon, Z. (2012) Extraction and characterization of pectin from dragon fruit (Hylocereus polyrhizus) using various extraction conditions. *Sains Malaysiana*, 41(1), 41-45.

Kulkarni, S. & Vijayanand, P. (2010) Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (Passiflora edulis f. flavicarpa L.). *LWT-Food Science and Technology*, 43(7), 1026-1031.

Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Garau, M., Meza-Velázquez, J., Simal, S. & Rosselló, C. (2014) Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: a response surface methodology approach. *Carbohydrate Polymers*, 106, 179-189.

Mohnen, D. (2008) Pectin structure and biosynthesis. *Current opinion in plant biology*, 11(3), 266-277.

Panchev, I., Kirtchev, N. & Kratchanov, C. (1989) Kinetic model of pectin extraction. *Carbohydrate polymers*, 11(3), 193-204.

Santos, J. D. G., Espeleta, A. F., Branco, A. & de Assis, S. A. (2013) Aqueous extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate polymers*, 92(2), 1997-2001.

Seixas, F. L., Fukuda, D. L., Turbiani, F. R., Garcia, P. S., Carmen, L. d. O., Jagadevan, S. &

Sharma, B., Naresh, L., Dhuldhoya, N., Merchant, S. & Merchant, U. (2006) An overview on pectins. *Times Food Processing Journal*, 23(2), 44-51.

Wang, W., Ma, X., Jiang, P., Hu, L., Zhi, Z., Chen, J., Ding, T., Ye, X. & Liu, D. (2016) Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions. *Food Hydrocolloids*, 61, 730-739.

Xu, Y., Zhang, L., Bailina, Y., Ge, Z., Ding, T., Ye, X. & Liu, D. (2014) Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel. *Journal of Food Engineering*, 126, 72-81.

Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B. & Paquot, M. (2007) Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food chemistry*, 100(4), 1356-1364.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 477-484

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 484-477

Evaluation of physicochemical properties of pectin extracted from eggplant waste using ultrasound technique

M. Noshad*, M. A. Mehrnia, N. Dehghan

Received: 2018.03.02
Accepted: 2019.04.20

Introduction: Pectin is a type of water-soluble hetero-polysaccharide that is present in the primary cell wall of plant and is used as a jellying, thickening and stabilizing agent in various food products. The degree of esterification is the most important determinant of the use of pectin in the food products, according to pectin is divided into two groups: high-esterification pectin (50% degree of esterification) and pectin with degree low esterification (degree of esterification less than 50 %). Considering the high use of pectin in the food products, researchers are now looking for new sources of pectin extraction, among which the use of food waste has been considered high, because the waste of food factories is a major challenge for food manufacturers. Eggplant (*Solanum melongena)* belongs to the *Solanaceae* family, which is used extensively in the world. The plan species is believed to have originated in India, where it continues to grow in southern and eastern Asia. The skin and warhead of this product, which is discarded as waste, can be used as a valuable source for pectin extraction. The most commonly used methods for pectin extracting are the use of hot water, along with acids, which is a time-consuming process and the waste discard of this method is environmentally problematic. Therefore, the use of new methods such as ultrasound has been considered by researcher to minimize the limitations of the traditional method of pectin extracting. The purpose of this study was to extract pectin from eggplant waste using ultrasound and evaluate its physicochemical properties.

Material and methods: The waste of eggplant from restaurant of agricultural sciences and natural resources university of Khuzestan were prepared. The waste was dried in an oven at 60 ºC to reach constant weight. The dried waste was powdered using a grinder and passed through the sieve. The ultrasound was used to extract pectin from eggplant waste (skin and warhead). For this purpose, the effect of ultrasound time (40-80 min) and dry matter /solvent ratio (1:10 – 1:30 g/ml) on extraction efficiency degree of esterification of extracted pectin were investigated. The FTIR (wavelengths scanned 4000-400 cm^{-1}) and rheological behavior were studied to evaluate the performance characteristics of the extracted pectin. Analysis of variance (ANOVA) procedure followed by Duncan's test using SPSS 16 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software was applied to determine the significant difference ($P < 0.05$) between treatment means.

Result & discussion: Based on results, increasing the extraction time had a significant effect ($P<0.05$) on the pectin extraction, so that the increase in extraction time from 40 to 60 min increased the extraction efficiency from 14.05 ±0.21 to 29.35±0.21 (%), which is probably due to the fact that the cavitation causes the cell wall to break down and more solvent penetrates the cell matrix, which results in increased extraction of pectin. The highest efficiency of pectin was obtained in the dry matter /solvent ratio (1:10 g/ml) and 60 min. The highest degree of esterification (84.18 ± 0.1 %) was obtained in the dry matter /solvent ratio (1:20 g/ml) and 60 min. Also, the degree of esterification of the obtained pectin varied from 67.69 ± 0.02 to 84.14 ± 0.1 %), which indicated the high quality of pectin was extracted. Due to the fact that the steric bonds are more unstable than acidic hydrolysis in comparison with glycosidic bonds, the higher degree of esterification indicates less damage to the pectin structure during the extraction process. FTIR showed all of the pectin's specific spectra and abundance of methoxy groups in extracted pectin. The FT-IR spectra show the characteristic absorption of -CH at the ranges of 3000-2800 cm^{-1} and at 1421 cm^{-1}, while the wide band at 3406 cm^{-1} was assigned to the -OH stretching vibration. The wide band at the ranges of 1700-1600 cm^{-1} can be due to the stretching vibrations of the C=O bonds in the backbone of crude polysaccharide because of presence of uronic acid. Existence of a peak at 1200-900 cm^{-1} indicates that pectin contained multiple vibrations of glycosidic (C–O-C) and pyranoid (C=O) linkages due to the characteristic of the pyranose form of glucosyl residues. The apparent viscosity of the extracted pectin solution decreased with increasing shear rate (0.5 to 10 s^{-1}) while in the higher shear rate (10 to 100 s^{-1}), the apparent viscosity of the pectin solution remained almost constant. This process shows that the produced pectin solution at low shear rate exhibits pseudo plastic behavior, while at highest shear rate exhibits Newtonian behavior. These results indicated that eggplant waste could be used as a good source of high-performance pectin.

Department of Food Science & Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan
(* Corresponding author E-mail: Noshad@asnrukh.ac.ir)

Keywords: Ultrasound; Pectin extraction; Degree of esterification; Eggplant waste.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 485-496

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 496-485

بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای میدان الکتریکی پالسی و ریزموج بر برخی از خصوصیات روغن و کنجاله حاصل از دان سیاه

نازنین مریم محسنی[1]- حبیب الله میرزایی[2*]- معصومه مقیمی[3]

تاریخ دریافت: 1397/05/03
تاریخ پذیرش: 1398/02/04

چکیده

یکی از محبوب‌ترین روش‌ها برای استخراج روغن از دانه‌های روغنی در سراسر جهان پرس مکانیکی می‌باشد. در این تحقیق به‌منظور بررسی فرایند استخراج روغن از دان سیاه از پیش‌تیمارهای میدان الکتریکی پالسی (با شدت‌های مختلف میدان الکتریکی (250 kV/m و 500)، با تعداد پالس 30) و ریزموج (با توان 900 واتی برای مدت زمان‌های 100 و 200 ثانیه) استفاده گردید و بعد از اعمال این پیش‌تیمارها، روغن دانه‌ها با پرس مارپیچی و با سرعت 34 دور در دقیقه استخراج شد و میزان راندمان فرایند استخراج، ضریب شکست، ترکیبات فنولی، پایداری اکسایشی روغن، پروتئین و خاکستر کنجاله در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از پیش‌تیمارهای ریزموج و میدان الکتریکی پالسی در زمان‌ها و شدت‌های پایین‌تر منجر به افزایش راندمان استخراج روغن، پروتئین و خاکستر کنجاله گردید. ولی با افزایش زمان ریزموج و همچنین شدت میدان الکتریکی پالسی، میزان آنها کاهش یافت. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از ضریب شکست روغن‌ها نیز نشان داد که نوع پیش‌تیمار بر ضریب شکست روغن‌ها تأثیر معنی‌دار نداشت (P>0/05) و میزان ضریب شکست برای تمامی نمونه‌های اندازه‌گیری شده برابر 1/478 بود. استفاده از پیش‌تیمارهای مختلف، افزایش فنول کل و همچنین پایداری اکسایشی روغن‌ها را در پی داشت به‌گونه‌ایی که بیشینه میزان فنول کل و پایداری اکسایشی از پیش‌تیمار میدان الکتریکی پالسی با شدت میدان 500 kV/m به‌دست آمد. در پایان، نتایج این مطالعه مشخص کرد که استفاده از پیش‌تیمارهای ریزموج (برای 100 ثانیه) و میدان الکتریکی پالسی (با شدت میدان الکتریکی 250 kV/m) می‌تواند در استخراج روغن از دان سیاه به علت افزایش راندمان استخراج روغن و پروتئین کنجاله و همچنین افزایش ترکیبات مفید موجود در روغن بسیار مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: استخراج روغن، دان سیاه، ریزموج، کنجاله، میدان الکتریکی پالسی

مقدمه

دان سیاه با نام علمی *Guizotia abyssinica Cass* و نام انگلیسی Niger از خانواده Asteraceae، گیاهی دو لپه و یک ساله می‌باشد (Riley and Belayneh, 1989). این گیاه به دلیل میزان عملکرد پایین تولید در کشورهای دیگر، در صنعت روغن مورد توجه و بحث قرار نگرفته است. دان سیاه عمدتاً در کشور اتیوپی و هند کشت و در سطح کمتری در چندین کشور آفریقایی، آسیایی و در آمریکا یافت می‌شود. دان سیاه در اروپا، آمریکا، کشورهای حاشیه خلیج فارس و ایران به‌عنوان غذای پرنده مصرف می‌گردد (Melaku, 2015). در منابع مختلف، میزان روغن استخراجی از بذور این گیاه از 37 تا 50 درصد عنوان شده است. بیشترین اسید چرب غیراشباع آن لینولئیک اسید به‌همراه اولئیک اسید و بیشترین اسید چرب اشباع آن اسید پالمیتیک و اسید استئاریک می‌باشد. ترکیب اسید چرب روغن این گیاه مشابه روغن گلرنگ و آفتابگردان (البته با درصد بالایی از لینولئیک اسید که ممکن است به بالای 85 درصد هم برسد) می‌باشد. روغن دان سیاه می‌تواند جانشینی برای روغن زیتون و روغن کنجد با هدف داروسازی باشد و در تهیه رنگ، صابون، گریس و در عطرسازی به‌عنوان حامل بو به‌کار رود (واثقی و دوازده امامی، 1394). همچنین، این روغن دارای درصد بالایی از مواد آنتی‌اکسیدان می‌باشد (Ramadan Morsel, 2003 and). کنجاله بذر آن پس از روغن‌کشی فاقد هر گونه مواد سمی و دارای حدود 35 درصد پروتئین و 23 درصد فیبر خام است (Pradhan *et al*., 1995) که می‌تواند در تغذیه دام و طیور، احیاناً انسان و حتی به‌عنوان کود کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد (Adarsh *et al*., 2014). به‌طور کلی پرس مکانیکی یکی از

1- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.
2- دانشیار گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
گروه شیمی، واحد گنبد کاووس، دانشگاه آزاد اسلامی، گنبد کاووس، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: mirzaeii.habib@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.74361

محبوب‌ترین روش‌ها برای استخراج روغن از دانه‌های روغنی گیاهی در سراسر جهان است (بخش آبادی، 1396). افزایش دما سبب استخراج بیشتر و سریع‌تر روغن از دانه و موثر شدن فرآیند استخراج می‌گردد (Rostami *et al*., 2014). امواج ریزموج، امواج الکترومغناطیسی غیریونیزه با فرکانس بین300 مگاهرتز تا 300 گیگاهرتز هستند و میان امواج رادیویی و مادون قرمز در طیف الکترومغناطیسی قرار دارند که از دو میدان عمودی نوسانی یعنی میدان الکتریکی و مغناطیسی ساخته می‌شوند. حرارت‌دهی معمولی وابسته به پدیده هدایت- جابجایی بوده و در نتیجه مقدار زیادی از انرژی حرارتی از طریق محیط از دست می‌رود در حالی‌که با این امواج، حرارت‌دهی در یک مسیر مشخص و انتخابی و بدون اتلاف حرارت به محیط اتفاق می‌افتد، یعنی همانند حرارت‌دهی که در یک سیستم بسته صورت می‌گیرد. اصول حرارت‌دهی با ریزموج، بر اساس تأثیر مستقیم امواج با حلال و مواد قطبی بوده و به‌وسیله دو پدیده انتقال یونی و چرخش دوقطبی اثر می‌گذارد که در بیشتر موارد هم‌زمان اتفاق می‌افتد (Bakhshabadi *et al*., 2017؛ Mandal *et al*., 2007). از پژوهش‌هایی که از ریزموج در استخراج روغن استفاده نمودند می‌توان به مطالعات Momeny و همکاران (2012)، Cravotto و همکاران (2007)، Jiao و همکاران (2014) و Qu و همکاران (2013) اشاره نمود که نتایج این مطالعات مشخص گردادند که استفاده از ریزموج‌ها منجر به بهبود راندمان استخراج و خواص کیفی روغن می‌شود. افزایش تقاضای مصرف‌کنندگان برای دستیابی به محصولات با کیفیت بالاتر و با حداقل اتلاف مواد مغذی نسبت به روش‌های مرسوم حرارتی، استفاده از روش‌های غیرحرارتی از جمله استفاده از میدان‌های الکتریکی پالسی را افزایش داد (Quass, 1997). خواستگاه استفاده از این فرایند را می‌توان به تحقیقاتی که توسط دئون اسپک صورت گرفت، نسبت داد (Barbosa-Canovas, and Zhang, 2001). با استفاده از میدان‌های الکتریکی پالسی به علت افزایش در نفوذپذیری سلول‌ها، میزان راندمان استخراج روغن افزایش می‌یابد که قابل قبول‌ترین نظریه پذیرفته شده درباره نحوه عملکرد روش میدان الکتریکی پالسی (PEF[1]) با مدل الکترومکانیکی معرفی شده توسط زیمرمن و همکاران در سال 1974 تطابق دارد. زمانی که اختلاف پتانسیل به حد بحرانی رسید، نیروی جاذبه بین بارهای با قطب‌های مخالف خود سبب غالب شدن نیروهای الکترومکانیکی و آسیب دیدن غشاء الاستیک می‌شود و به این ترتیب منافذی در غشاء به وجود می‌آید که این پدیده را نفوذپذیری الکتریکی یا الکتروپوراسیون[2] گویند (Asavasanti et al., 2011). پژوهش‌گران زیادی تأثیر میدان الکتریکی پالسی را به‌عنوان پیش‌تیمار در حین استخراج ترکیبات مختلف، مورد مطالعه قرار دادند وگزارشات آن‌ها حاکی از تأثیر مثبت این فرایند بر خواص کیفی و حسی عصاره یا روغن استخراج شده داشت (Guderjan *et al*, 2005; 2007). با توجه به اینکه تاکنون هیچ‌گونه پژوهشی در زمینه استخراج روغن از دان سیاه با پیش‌تیمارهای ریزموج و میدان الکتریکی پالسی و مقایسه این روش‌ها با یکدیگر صورت نگرفته است و از طرفی استفاده از این پیش تیمارها منجر به بهبود راندمان و خواص کیفی روغن می‌شود، به‌همین دلیل در پژوهش حاضر سعی شد تأثیر این پیش‌تیمارها را بر برخی از خصوصیات روغن و کنجاله دان سیاه، مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این پژوهش دان سیاه (حاوی 40 درصد روغن) از بازار محلی استان فارس (ایران) تهیه شد. سپس مواد خارجی از قبیل بذر علف‌های هرز، شن و سنگ توسط دست جدا گردید و جهت انجام آزمایشات به آزمایشگاه صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گنبد کاووس و آزمایشگاه فناوری‌های نوین پژوهشکده صنایع غذایی منتقل شد. مواد شیمیایی مانند اسید سولفوریک، هگزان، سولفات مس و سولفات پتاسیم از شرکت‌های معتبر مرک و سیگما تهیه شد. تجهیزات مورد استفاده در این تحقیق عبارتند از الک آزمایشگاهی، دسیکاتور، آون آزمایشگاهی (Memert، آلمان)، ترازوی دیجیتال(Gec Avery، انگلستان)، رفراکتومتر (Abbe، کروز، آلمان)، دستگاه ریزموج (LG، کره جنوبی)، دستگاه میدان الکتریکی پالسی ساخته شده در پژوهشکده صنایع غذایی ایران و پرس مارپیچی آزمایشگاهی (Kern Kraft، آلمان).

اعمال پیش‌تیمار روی دانه‌ها و استخراج روغن

برای این منظور دانه‌ها تحت تأثیر پیش‌تیمارهای ریزموج با توان 900 وات و زمان‌های مختلف فرایند (100و 200 ثانیه) و میدان الکتریکی پالسی با دو سطح شدت میدان الکتریکی (250 و 500 kV/m و با 30 پالس) قرار گرفتند (Bakhshabadi *et al*., 2017; Guderjan *et al*., 2005; Kittiphoom & Sutasinee, 2015; Uquiche *et al*., 2008). بعد از اعمال این تیمارها، روغن دانه‌ها با پرس مارپیچی و با سرعت 34 دور در دقیقه استخراج شد و روی این روغن‌ها آزمایشات مختلف، صورت گرفت. نوع تیمار و حروف اختصاری مورد استفاده در مورد هر نمونه در جدول 1 آورده شده است.

1 pulsed electric field
2 Electroporation

جدول 1- پیش‌تیمارها و حروف مورد استفاده برای هر نمونه

نوع تیمار	ریزموج (ثانیه)	میدان الکتریکی پالسی (kV/m)
Control	صفر	صفر
T100MW	100	صفر
T200MW	200	صفر
E250PEF	0	250
E500PEF	0	500

محاسبه راندمان استخراج روغن (راندمان روغن‌کشی)

با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0/01 و با استفاده از معادله 1 به‌دست آمد.

(1) 100× گرم وزن دانه/ گرم روغن به‌دست آمده= درصد راندمان

اندازه‌گیری ضریب شکست

ضریب شکست روغن‌ها با دستگاه رفراکتومتر و در دمای 25 درجه سانتی‌گراد و مطابق روش AOCS Cc 7-25 (1993) تعیین گردید.

تعیین میزان ترکیبات فنولی کل

محتوای فنولی کل با روش رنگ‌سنجی و با استفاده از معرف فولین سیوکالتو تعیین شد. به این منظور یک گرم از هر نمونه با سه میلی‌لیتر محلول متانول: آب (به نسبت 90 به 10) مخلوط و به مدت 4 دقیقه همزده شد و سپس به مدت 5 دقیقه در سانتریفوژ با دور 3000 دور در دقیقه قرار گرفت و 20 میکرولیتر از فاز بالای استخراج متانولی با 8/2 میلی‌لیتر آب و 0/5 میلی‌لیتر معرف فولین مخلوط و بعد از 5 دقیقه یک میلی‌لیتر کربنات سدیم 10 درصد به مخلوط فوق اضافه و به مدت یک ساعت در دمای اتاق و درجای تاریک قرار داده شد. پس از این مدت، جذب نمونه‌ها در دمای اتاق با دستگاه اسپکتروفتومتر ماورای بنفش در 765 نانومتر قرائت گردید. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک (صفر تا 1000 میکروگرم در میلی‌لیتر) استفاده شد و محتوای فنولی کل به‌صورت میلی‌گرم اسید گالیک در هر کیلوگرم نمونه گزارش شد (Bail *et al*., 2008).

تعیین میزان پایداری اکسایشی

جهت تعیین میزان پایداری روغن در برابر اکسایش، از دستگاه رنسیمت و روش AOCS Cd 12b-92 (1993) استفاده گردید. اساس کار بر مبنای تغییر هدایت الکتریکی آب موجود در محفظه دستگاه از طریق ترکیبات حاصل از واکنش اکسایش روغن موجود در سل دستگاه است. پس از روشن نمودن گرم‌کننده دستگاه و رسیدن دمای آن به 110 درجه سانتی‌گراد، دقیقاً 3 گرم نمونه روغن در درون محفظه واکنش بدون تماس با دیواره منتقل گردید. لوله‌های ویژه هوادهی در داخل محفظه واکنش قرار گرفت و درب آن‌ها بسته شد. سل‌های ویژه با آب دارای هدایت الکتریکی کمتر از 5 میکرو زیمنس پر گردیدند (60 میلی‌لیتر) و با استفاده از رابط‌های ویژه به سل‌های حاوی روغن متصل شدند. با استفاده از نرم‌افزار رایانه متصل به دستگاه، پمپ ورودی هوا روشن گردید. سرعت جریان هوای ورودی 20 لیتر بر ساعت تنظیم شد. با عبور جریان هوا از درون سل‌های حاوی روغن سبب اکسایش آن‌ها شده و ترکیبات ناشی از این فرآیند از طریق رابط‌های ویژه به درون محفظه آب موجود در دستگاه منتقل شده و موجب افزایش هدایت الکتریکی آب می‌گردند. پس از گذشت زمان، نمونه‌های روغن کاملاً اکسیده شده و منحنی رسم شده توسط دستگاه به یک‌باره افزایش می‌یابد زمان مذکور توسط دستگاه ثبت می‌گردد در این حالت دستگاه به‌صورت اتوماتیک جریان هوا را قطع کرده و نتیجه نهایی را به‌صورت نمودار نشان می‌دهد. منحنی بر حسب زمان (ساعت) و هدایت الکتریکی (میکروزیمنس) برای هر کانال به‌صورت جداگانه رسم می‌گردد. جهت محاسبه میزان پایداری اکسایشی، خطوط مماس بر نقطه شکست نمودار رسم گردید. محل تقاطع این خطوط مماس بر محور افقی (زمان) میزان پایداری و مقاومت نمونه روغن بر اساس ساعت می‌باشد.

اندازه‌گیری پروتئین

میزان ازت در دانه‌ها با استفاده از دستگاه کجلدال تمام اتوماتیک و بر اساس روش AOAC 990-03 (2008) اندازه‌گیری شد که شامل سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون بود. پس از تیتراسیون مقدار ازت با استفاده از رابطه ذیل محاسبه و با استفاده از ضریب تبدیل 6/25، میزان پروتئین محاسبه گردید.

(2) 100× وزن نمونه/ (14/008× عدد تیتر)= درصد ازت

تعیین میزان خاکستر

مقدار خاکستر بر اساس روش AOAC 942-05 (2008) و با کوره الکتریکی در دمای 550-500 درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

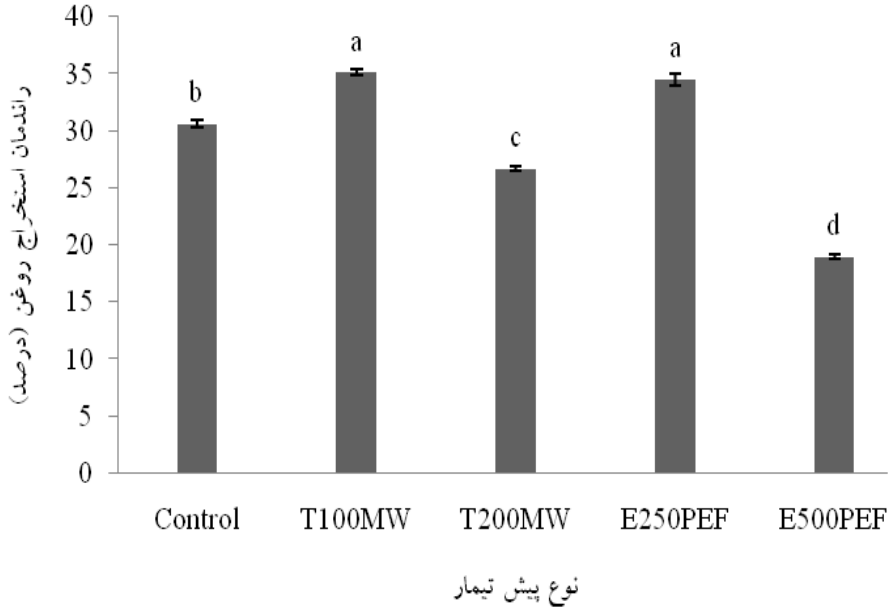
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی ساده با 3 تکرار انجام گردید. از نرم‌افزار SAS 9,3,1 برای تجزیه و تحلیل اطلاعات و از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح 5 درصد برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر پیش تیمارهای مختلف بر راندمان استخراج روغن

مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون دانکن (شکل 1) نشان داد که استفاده از پیش‌تیمارهای ریزموج و میدان الکتریکی پالسی در زمان‌ها و شدت‌های پایین‌تر منجر به افزایش راندمان استخراج گردید. ولی با افزایش زمان ریزموج و همچنین شدت میدان الکتریکی پالسی، راندمان استخراج روغن کاهش یافت به‌گونه‌ایی زمانی که از میدان الکتریکی پالسی با شدت میدان الکتریکی 500 kV/m استفاده شده بود، کمترین راندمان استخراج را داشت. افزایش راندمان استخراج روغن با استفاده از ریزموج می‌تواند به شکستگی بیشتر یا از هم پاشیدگی سلول‌های حاوی روغن در طول تیمار با ریزموج در ارتباط باشد (Bakhshabadi, *et al*., 2017; Uquiche, *et al*., 2008).



شکل 1- تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف بر میزان راندمان استخراج روغن دان سیاه

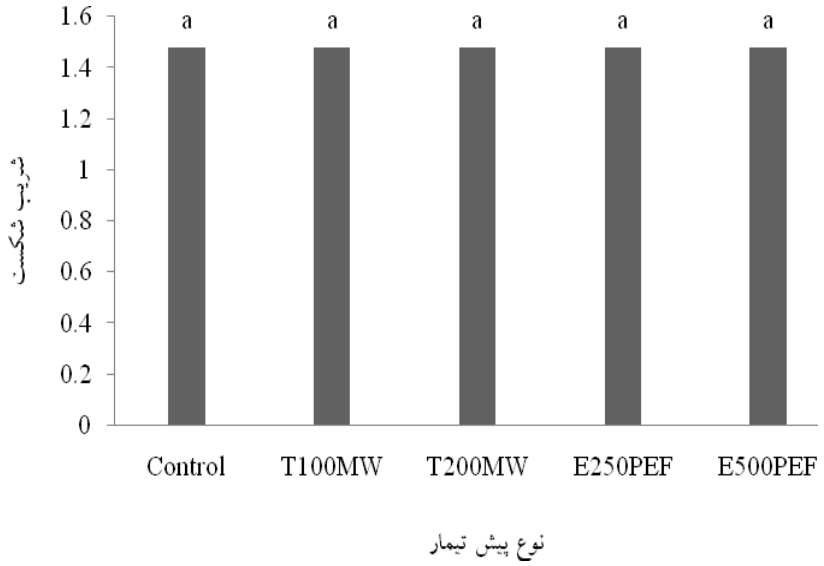
(حروف انگلیسی مختلف در بالای هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی داری در سطح 1 درصد می‌باشد)

همچنین Mohamedand Awatif (1998) گزارش کرد که بهبود راندمان استخراج روغن به‌واسطه حرارت‌دهی با ریزموج‌ها می‌تواند ناشی از تخریب ترکیبات پروتئینی نیز باشد. نتایج این بخش با یافته‌های Nde و همکاران (2015) مطابقت داشت. علت افزایش راندمان استخراج روغن با استفاده از میدان الکتریکی پالسی را می‌توان به اثر تجزیه‌شوندگی الکتریکی سلول‌ها و نفوذپذیری بیشتر آن‌ها نسبت داد (Schroeder *et al*., 2009). نتایج این بخش Bakhshabadi و همکاران (2018) مطابقت داشت. کاهش راندمان استخراج روغن را با افزایش بیش از حد زمان ریزموج و همچنین شدت میدان الکتریکی را نیز احتمالاً می‌توان به تخریب بیشتر ساختار درونی دانه‌ها و بسته شدن مجاری خروجی روغن نسبت داد. بخش آبادی و همکاران (1396) بیان داشتند که استفاده از شدت‌های بالای میدان الکتریکی منجر به کاهش راندمان استخراج روغن می‌شود که نتایج این بخش موید نتایج آنها بود. مقیمی و همکاران (1397)، اثر زمان فرایند ریزموج (صفر، 30، 60، 90، 120، 150، 180، 210، 250 و270 ثانیه) را بر پایداری اکسایشی و برخی خصوصیات کمی و کیفی روغن استخراج شده از دانه‌های کلزا مورد مطالعه قرار دادند و بیان داشتند که با افزایش زمان ریزموج تا 240 ثانیه، راندمان استخراج

روغن افزایش ولی با افزایش بیشتر زمان فرایند منجر به کاهش راندمان استخراج روغن شد.

تأثیر نوع پیش‌تیمار بر ضریب شکست روغن‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از ضریب شکست روغن‌ها نشان داد که نوع پیش‌تیمار بر ضریب شکست روغن‌ها تأثیر معنی‌دار نداشت (P>0/05) و میزان ضریب شکست برای تمامی نمونه‌های اندازه‌گیری شده برابر 1/478 بود (شکل 2). ضریب شکست اغلب به‌عنوان ملاکی از خلوص روغن استفاده می‌گردد. این پارامتر با افزایش طول زنجیر (گرچه رابطه خطی نیست) و درجه غیراشباعیت افزایش می‌یابد. روغن‌ها و چربی‌های مختلف ضریب شکست خاص خود را دارند لذا این ویژگی، برای تشخیص هویت و تعیین خلوص روغن‌ها و چربی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. ضریب شکست در کنترل پیشرفت واکنش‌ها نظیر هیدروژناسیون و ایزومریزاسیون کاتالیزوری روغن‌ها مفید است. همچنین برای تشخیص اکسایش روغن نیز از ضریب شکست استفاده می‌شود درجه حرارت و اشباعیت از عوامل مؤثر بر ضریب شکست هستند (Uquiche *et al.*, 2008). یافته‌های این پژوهش با یافته‌های Tale Masouleh و همکاران (2015) مطابقت داشت.



شکل 2- تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف بر ضریب شکست روغن دان سیاه

(حروف انگلیسی مختلف در بالای هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی داری در سطح 1 درصد می‌باشد)

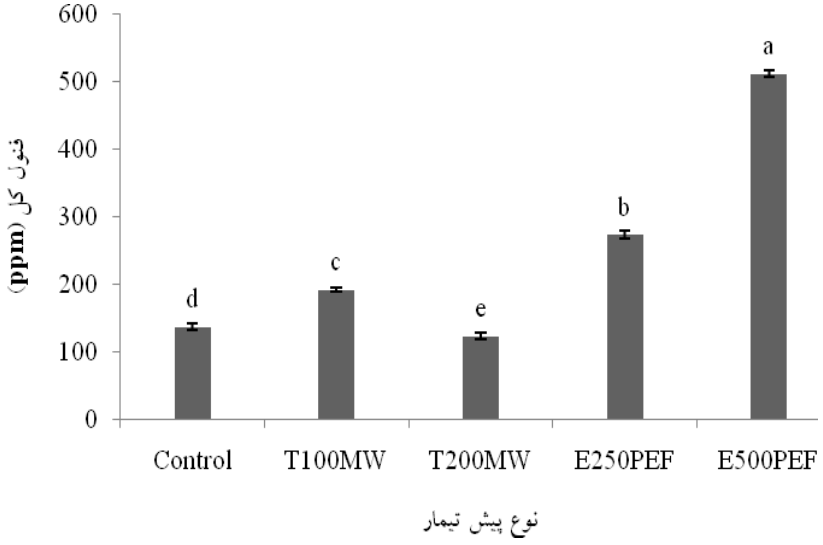
تأثیر نوع پیش‌تیمار بر فنول کل روغن‌ها

همان‌طور که در شکل 3 آورده شده است استفاده از پیش‌تیمارهای مختلف، افزایش فنول کل روغن‌ها را در پی داشت به‌گونه‌ایی که بیشینه میزان فنول کل از پیش‌تیمار میدان الکتریکی پالسی با شدت میدان 500 kV/m به‌دست آمد که 313 درصد بیش از میزان فنول کل کمینه روغن‌ها (نمونه حاصل از پیش تیمار 200 ثانیه ریزموج) بود. اصول حرارت‌دهی با استفاده از انرژی ریزموج به اثرات مستقیم این امواج روی مولکول‌ها با مکانیسم‌های چرخش دو قطبی و انتقال یونی وابسته است. مولکول‌های قطبی همانند ترکیبات فنولی و محلول‌های یونی انرژی ریزموج را به دلیل داشتن گشتاور دو قطبی به میزان زیادی جذب می‌کنند که منجر به افزایش دما و تکمیل سریع واکنش می‌شود و این امر موجب وارد شدن هرچه بیشتر این ترکیبات به داخل روغن می‌شود (Proestos and Komaitis., 2008). نتایج این بخش با نتایج Beejmohun و همکاران (2007) و Jiao و همکاران (2014) مطابقت داشت. علت افزایش این ترکیبات با افزایش شدت میدان الکتریکی را نیز می‌توان به آزادسازی بیشتر این ترکیبات بر اثر میدان الکتریکی نسبت داد که با نتایج Sarkis و همکاران (2015) مطابقت داشت. از طرفی استفاده از ریزموج برای 200 ثانیه احتمالا به علت تخریب بیشتر این ترکیبات، میزان آنها در نمونه نهایی کاهش یافت.

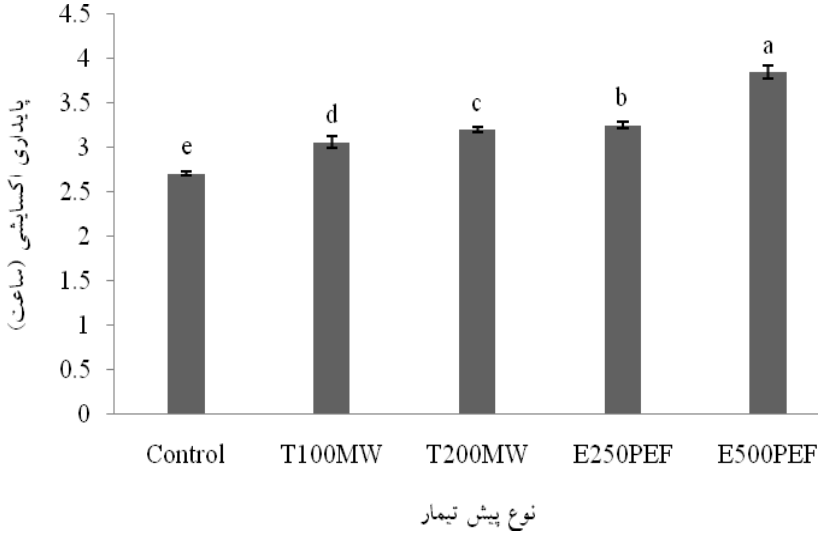
تأثیر پیش تیمارهای مختلف بر پایداری اکسایشی روغن

پایداری اکسایشی عبارت است از مدت زمان لازم برای رسیدن به نقطه‌ای که در آن یکی از کمیت‌های اکسایشی مانند عدد پراکسید یا عدد کربونیل پس از طی نمودن روند افزایشی خود به‌طور ناگهانی افزایش می‌یابد و باعث تولید طعم و بوی نامطلوب در روغن می‌شود (White,

1991). اکسایش باعث ایجاد فساد می‌شودکه بوی نامطلوب و کاهش کیفیت غذا را به دنبال دارد. روش‌های متعددی برای ارزیابی مواد حاصل از فرایندهای حرارتی که دارای آثار زیادی بر خواص شیمیایی، فیزیکی و تغذیه‌ای روغن هستند، وجود دارد که یکی از مهم‌ترین آن‌ها شاخص پایداری اکسایشی است (Holser *et al*., 2003). اندازه‌گیری شاخص پایداری اکسایشی طی فرایندهای حرارتی روغن‌ها به تنهایی برای ارزیابی کیفیت روغن‌ها کافی نیست اما اطلاعاتی در خصوص وضعیت اولیه نمونه روغن در اختیار می‌گذارد (Matthaus, 2006).



شکل 3- تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف بر فنول کل روغن دان سیاه
(حروف انگلیسی مختلف در بالای هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی داری در سطح 1 درصد می‌باشد)



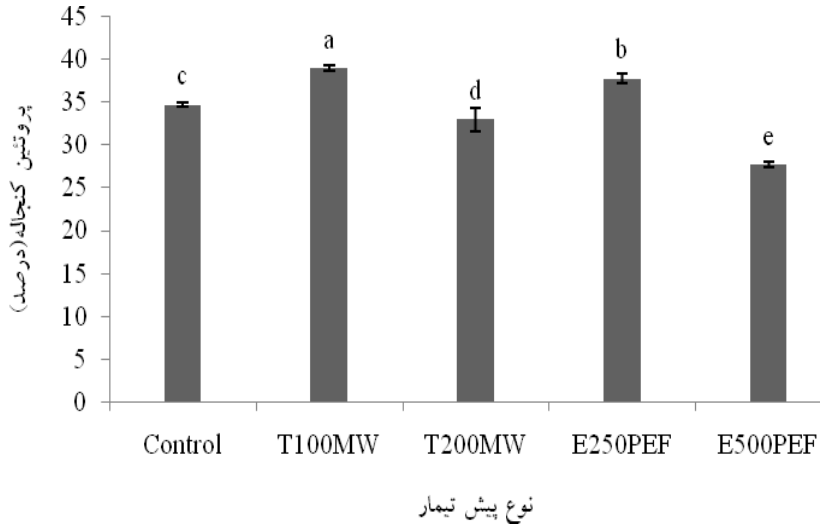
شکل 4- تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف بر پایداری اکسایشی روغن دان سیاه
(حروف انگلیسی مختلف در بالای هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی داری در سطح 1 درصد می‌باشد)

شکل 4 نشان داد که استفاده از پیش‌تیمارهای مختلف منجر به افزایش پایداری اکسایشی روغن‌ها گردید به‌طوری که بیشینه پایداری اکسایشی زمانی به‌دست آمد که از میدان الکتریکی پالسی با شدت 500 kV/m استفاده شده بود. علت افزایش پایداری اکسایشی را

می‌توان به افزایش میزان ترکیبات توکوفرولی و ضد اکسنده در اثر استفاده از این پیش تیمارها نسبت داد. Spielmeyer و همکاران (2009) و Guderjan و همکاران (2007) نیز بیان داشتند که استفاده از پیش تیمارهای مختلف منجر به افزایش پایداری اکسایشی روغن‌ها می‌شود. Lee و همکاران (2004) نشان دادند که اعمال تیمار ریزموج بر گلرنگ، افزایش پایداری روغن حاصله را به همراه داشت. همچنین آنها بیان کردند که پایداری بالاتر روغن بدست آمده از نمونه تیمار شده در ریزموج ممکن است با تشکیل محصولات واکنش قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی، طی فرآیند برشته کردن در ارتباط باشد. مطالعات صورت گرفته روی محصولات حاصل از واکنش میلارد نشان داد که این ترکیبات دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی می‌باشند. Bakhshabadi و همکاران (2018) بیان داشتند که استفاده از ریزموج و میدان الکتریکی پالسی منجر به افزایش پایداری اکسایشی روغن سیاه دانه شد.

تأثیر نوع پیش‌تیمار بر میزان پروتئین کنجاله

استفاده بهینه از پروتئین مورد نیاز بدن تابع قابلیت هضم و الگوی اسیدهای آمینه ضروری در منابع غذایی بوده که برای بدن فراهم می‌گردد. از این‌رو تعیین مقدار پروتئین و ارزیابی مواد غذائی مورد مصرف، در برنامه‌ریزی‌های غذا و تغذیه به‌جهت تأمین نیازهای زیستی انسان لازم می باشد (تقی‌زاده و همکاران، 1385). از طرف دیگر قیمت‌گذاری کنجاله در کارخانجات روغن‌کشی بر مبنای میزان پروتئین و رطوبت می‌باشد (Rostami *et al*., 2014). آنالیز واریانس داده‌های حاصل از انجام آزمایشات نشان داد که نوع پیش‌تیمار بر میزان پروتئین کنجاله تأثیر کاملا معنی‌دار داشت ($P<0/01$). مقایسه میانگین داده‌های حاصل از پروتئین کنجاله (شکل 5) نشان داد که بیشینه و کمینه میزان پروتئین کنجاله به‌ترتیب از نمونه تیماردیده شده با 100 ثانیه ریزموج و 500 kV/m میدان الکتریکی پالسی به‌دست آمد به عبارت دیگر استفاده از تیمارهای مختلف (در زمان‌ها و شدت‌های میدان الکتریکی پایین ریزموج و میدان الکتریکی پالسی) در استخراج روغن باعث افزایش میزان پروتئین نسبت به نمونه فاقد تیمار گردید که علت این پدیده را می توان به استخراج بیشتر روغن از دانه‌ها و در نتیجه افزایش درصد پروتئین باقیمانده در کنجاله ها نسبت داد. Choi و همکاران (2006) و Sarkis و همکاران (2015) نیز به ترتیب افزایش میزان پروتئین استخراجی را توسط روش‌های ریزموج و میدان الکتریکی پالسی گزارش کردند.



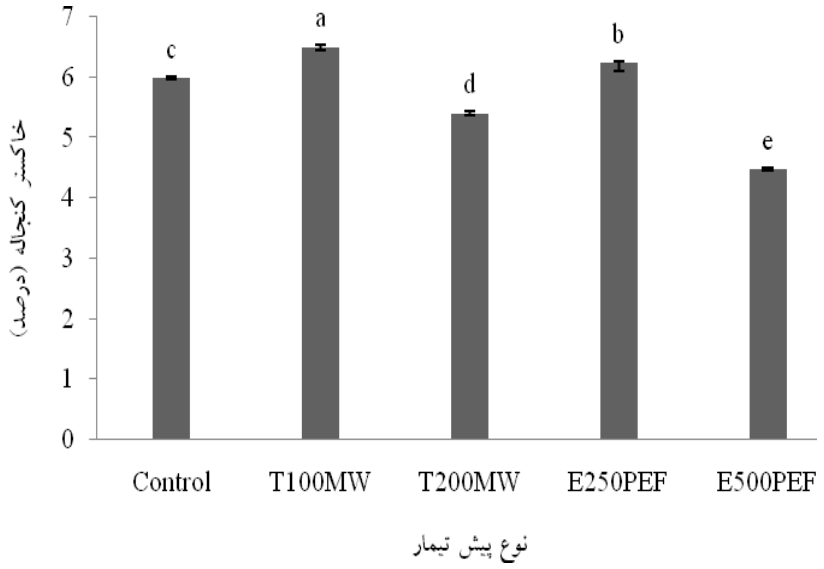
شکل5-تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف بر پروتئین کنجاله دان سیاه

(حروف انگلیسی مختلف در بالای هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی داری در سطح 1 درصد می‌باشد)

تأثیر پیش تیمارهای مختلف بر میزان خاکستر کنجاله

شکل 6 نشان داد که پیش‌تیمارهای ریزموج و میدان الکتریکی پالسی بر میزان خاکستر کنجاله دان سیاه، تأثیری مشابه این پیش‌تیمارها بر پروتئین کنجاله داشت به‌گونه‌ایی که بیشینه میزان خاکستر کنجاله مربوط به نمونه حاصل از پیش‌تیمار ریزموج با 100 ثانیه فرایند بود که این پیش‌تیمار بیشترین میزان راندمان استخراج روغن و همچنین پروتئین کنجاله را نیز داشت. نتایج این بخش با نتایج Hefnawy (2011) که از روش‌های مختلف برای پختن عدس

استفاده نموده بود و بیان داشته بود که استفاده از ریزموج به‌علت خروج مواد معدنی از ماده در طول پختن، میزان خاکستر کاهش می‌یابد در تضاد بود ولی با نتایج بخش آبادی (1396) که بیان نموده بود استفاده از پیش‌تیمار ریزموج و میدان الکتریکی پالسی به علت خروج بیشتر روغن از دانه، میزان خاکستر کنجاله‌ها افزایش می‌یابد، کاملا مطابقت داشت به عبارت دیگر هرچه میزان روغن استخراج شده از دانه‌ها بیشتر باشد درصد خاکستر کنجاله بیشتر خواهد بود.



شکل6- تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف بر خاکستر کنجاله دان سیاه

(حروف انگلیسی مختلف در بالای هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی داری در سطح 1 درصد می‌باشد)

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از پیش‌تیمارهای ریزموج و میدان الکتریکی پالسی در استخراج روغن منجر به افزایش ترکیبات فنولی کل، راندمان استخراج روغن، پایداری اکسایشی، پروتئین و خاکستر کنجاله می‌شود هرچند در زمان‌های بالاتر ریزموج و همچنین شدت‌های میدان الکتریکی بیشتر ممکن است نتیجه عکس داشته باشد. از طرفی مشخص گردید که استفاده از پیش‌تیمارهای مختلف تأثیری بر ضریب شکست روغن‌ها ندارد. در پایان، نتایج این مطالعه مشخص کرد که استفاده از پیش‌تیمارهای ریزموج (برای 100 ثانیه) و میدان الکتریکی پالسی (با شدت میدان الکتریکی 250 kV/m) می‌تواند در استخراج روغن از دان سیاه به علت افزایش راندمان استخراج و همچنین افزایش ترکیبات مفید موجود در روغن بسیار مفید باشد.

منابع

بخش آبادی، ح. 1396. بهینه‌سازی و مدل‌سازی استخراج روغن از سیاه‌دانه به کمک پیش‌تیمارهای میدان الکتریکی متناوب و ریز موج. رساله جهت اخذ درجه دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. 206 صفحه.

بخش آبادی، ح.، میرزایی، ح.ا.، قدس‌ولی، ع.ر.، جعفری، س.م.، ضیایی فر، ا.م. و بیگ بابایی، ع. 1397. بهینه‌سازی فرایند استخراج روغن از سیاه‌دانه با پیش‌تیمار میدان الکتریکی متناوب (PEF). نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی. 6 (3): 221-234.

تقی‌زاده، م.، عاصمی، ذ.، شاکر حسینی، ر.، امین پور، آ. ولائی، ن. 1385. ارزیابی و مقایسه زیستی کیفیت پروتئین سویا. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام. 14(4): 1-8.

مقیمی، م.، بیگ بابایی، ع.، بخش آبادی، ح.، محمدی، م. و رشیدزاده، ش. 1397. تاثیر فرایند ریزموج بر پایداری اکسیداتیو و برخی خصوصیات کمی و کیفی روغن استخراج شده از دانه‌های کلزا. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی. 7(1): 65-74.

واثقی، آ. و دوازده امامی. س. 1394. مقایسه درصد روغن و میزان عناصر معدنی بذر گیاه جدید دان سیاه (*Guizotia abyssinica Cass*) با دو توده ایرانی و هندی سیاه دانه (*Nigella sativa* L.). نشریه تولید گیاهان روغنی. 2 (2): 13-24.

Adarsh, M. N., Kumari, P. and Devi, S. 2014. A review of Guizotia abyssinica: A multipurpose plant with an economic prospective. *Journal of Industrial Pollution Control*, 30(2): 277-280.

AOAC. 2008. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, Vol. II. Arlington, VA: *Association of Official Analytical Chemists*.

AOCS. 1993. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, AOCS Press, Champaign, IL. 762p

Asavasanti, S., Ristenpart, W., Stroeve, P. And Barrett, D.M. 2011. Permeabilization of Plant Tissue by Monopolar Pulsed Electric Field: Effect of Frequency. *Journal of Food Science*. 76(1): 98-111.

Azadmard-Damirchi, S., Habibi, N. F., Hesari, J., Nemati, M. and Fathi, A. B. 2010. Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed. *Food Chemistry*. 121:1211–1215.

Bail, S., Stuebiger, G., Krist, S., Unterweger, H. and Buchbauer, G. 2008. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chemistry*. 108: 1122–1132.

Bakhshabadi, H., Mirzaei, H., Ghodsvali, A., Jafari, S. M., Ziaiifar, A. M., and Farzaneh, V. 2017. The effect of microwave pretreatment on some physico-chemical properties and bioactivity of Black cumin seeds' oil. *Industrial crops and products*. 97: 1-9.

Bakhshabadi, H., Mirzaei, H., Ghodsvali, A., Jafari, S. M. and Ziaiifar, A. M. 2018. The influence of pulsed electric fields and microwave pretreatments on some selected physicochemical properties of oil extracted from black cumin seed. *Food science & nutrition*, *6*(1), 111-118.

Barbosa-Canovas, G. V. and Zhang, Q. H. 2001. In Pulsed Electric Fields in Food Processing *Fundamentals Aspects and Applications*. Lancaster, PA: *Technomic Publishing* Co., Inc..

Beejmohun, V., Fliniaux, O., Grand, E., Lamblin, F., Bensaddek, L., Christen, P., Kovensky, J., Fliniaux, M.A. and Mesnard, F. 2007. Microwave-assisted Extraction of the Main Phenolic Compounds in Flaxseed. *Phytochemical Analysis*. 18: 275–282.

Choi, I.; Choi, S.J.; Chun, J.K. and Moon, T.W. 2006. Extraction yield of soluble protein and microstructure of soybean affected by microwave heating. *Journal of Food Processing and Preservation*. 30: 407–419.

Cravotto, G., Boffa, L., Mantegna, S., Perego, P., Avogadro, M. and Cintas, P. 2007. Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. Ultrasonics Sonochemistry. 15(5): 898-902.

Guderjan, M., Elez-Martínez, P. and Knorr, D. 2007. Application of pulsed electric fields at oil yield and content of functional food ingredients at the production of rapeseed oil. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8: 55–62.

Guderjan, M., Topfl, S., Angersbach, A. and Knorr, D. 2005. Impact of pulsed electric field treatment on the recovery and quality of plant oils. *Journal of Food Engineering*. 67 (3): 281–287.

Hefnawy, T.H. 2011. Effect of processing methods on nutritional composition and anti-nutritional factors in lentils (*Lens culinaris*). *Annals of Agricultural Science*. 56(2): 57–61.

Holser, R.A. 2003. Properties of refined milkweed press oil. Industrial crops and products. 18: 133-138.

Jiao, J., Li, Z.G., Gai, Q-Y, Li, X.G., Wei, F.U., Fu, Y.J. and Ma, W. 2014. Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from pumpkin seeds and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. *Food Chemistry*. 147: 17-24.

Kittiphoom, S. and Sutasinee, S. 2015. Effect of microwaves pretreatments on extraction yield and quality of mango seed kernel oil. *International Food Research Journal*. 22(3): 960-964.

Lee, Y.C., Oh, S.W., Chang, J. and Kim, I.H, 2004. Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures. *Food Chemistry* 84: 1–6.

Mandal, V., Mohan, Y. and Hemalatha, S. 2007. Microwave assisted extraction—an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. Pharmacognosy reviews. 1(1): 7-18.

Matthaus, B. 2006. Utilization of high – oleic rapeseed oil for deep-fat frying of French fries compared to other commonly used edible oils. *Europian Journal of Lipid Science and Technology*. 108: 200-211.

Melaku, E. T. 2015. Evaluation of Ethiopian nigerseed (*Guizotia abyssinica Cass*) production, seed storage and virgin *oil expression.*

Mohamed, H.M.A. and Awatif, I.I. 1998. The use of sesame oil unsaponifiable matter as a natural antioxidant. *Food Chemistry*. 62: 269-276.

Momeny, E., Rahmati, S. and Ramli, N. 2012. Effect of Microwave Pretreatment on the Oil Yield of Mango Seeds for the Synthesis of a Cocoa Butter Substitute. *Journal of Food Processing & Technology*. 3(7): 1-7.

Nde, B.D., Boldor, D. and Astete, C. 2015. Optimization of microwave assisted extraction parameters of neem (Azadirachta indica A. Juss) oil using the Doehlert's experimental design. *Industrial Crops and Products*. 65: 233–240.

Pradhan, K., Mishra, R. and Paikary, R. 1995. Genetic variability and character association in niger. *The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 44(4): 457-459.

Proestos, C. and Komaitis, M. 2008. Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds.Lebensm.Wiss.u.*Technol*. 41: 652–659.

Qu, X.J., Fu, Y.J., Luo, M., Zhao, C.J., Zu, Y.G., Li, C.Y., Wang, W., Li, J. and Wei, Z.F. 2013. Acidic pH based microwave-assisted aqueous extraction of seed oil from yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia Bunge*.). *Industrial Crops and Products*. 43: 420– 426.

Quass, D. W. 1997. Pulsed electric field processing in the food industry. A status report on pulsed electric field. Palo Alto, CA. *Electric Power Research Institute*. CR- 10974. 23-35.

Ramadan, M. F. and Moersel, J.T. 2003. Phospholipid composition of niger (*Guizotia abyssinica Cass*.) seed oil. *LWT-Food Science and Technology*.36(2): 273-276.

Riley, K.W. and Belayneh, H. 1989. Niger. Oil Crops of the World. 394-403.

Rostami, M., Farzaneh, V., Boujmehrani, A., Mohammadi, M. and Bakhshabadi, H. 2014. Optimizing the extraction process of sesame seeds oil using response surface method on the industrial scale. *Industrial Crops and Products*. 58:160–165.

Sarkis, J.R., Boussetta, N., Blouet, C., Tessaro, I.C., Ferreira Marczak, L.D. and Vorobiev, E. 2015. Effect of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges on polyphenol and protein extraction from sesame cake. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 29: 170–177.

Schroeder, S., Buckow, R. and Knoerzer, K. 2009. Numerical Simulation of Pulsed Electric Field (PEF*)* Processing for Chamber Design and Optimization, International Conference on CFD in the Minerads and Process Industries CSIRO, 17th, *Australia*.

Spielmeyer, A., Wagner, A. and Jahreis, G. 2009. Influence of thermal treatment of rapeseed on the canolol content. *Food Chemistry*. 112: 944–948.

Tale Masouleh, Z., Asadollahi, S. and Eshaghi, M.R. 2015. Effects of Pulsed Electric Fields as a Pre-Treatment on Yield Extraction and some Quality Properties of Sesame Oil. *International Journal of Review in Life Sciences*. 5(10): 1100-1104.

Uquiche, E., Jeréz, M. and Ort, Z.J. 2008. Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extractionnyield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*Gevuina avellana Mol*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9: 495–500.

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

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 485-496

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 496-485

The influence of pulsed electric field and microwave pre-treatments on some characteristics of oil and meal obtained from Niger seed

N. M. Mohseni [1], H. O. Mirzaei [2]*, M. Moghimi [3]

Received: 2018.07.25
Accepted: 2019.04.26

Introduction: Niger seed with scientific name of *Guizotia abyssinica Cass* from *Asteraceae* family is a dicotyledonous and one year plant that is one of the main and most important oil sources in Ethiopia and India. In different researches the amount of extracted oil from the seed of this plant has been mentioned about 37 to 50 percent. The composition of fatty acid in this plant is similar to safflower and sunflower seed oil (of course with high percentage of Linoleic acid that may reach more than 85 percent). Generally, the mechanical press is one of the most popular methods for extracting oil from vegetable oil seeds all over the world. Increase in temperature will lead to more and faster extraction of oil from seeds and will increase the extraction efficiency. Microwave, is the non-ionized electromagnetic wave with frequency between 300 MHz to 300 GHz and are placed between the radio and infrared waves in the electromagnetic spectrum, consumers' increasing demand for higher quality products and with minimized waste of nutrients in comparison with conventional thermal methods, caused an increase in use of non-thermal methods such as pulsed electric field methods. In current research it is tried to study the influence of pulsed electric fields and microwave pre-treatments on some characteristics of oil and meals obtained from Niger seed.

Materials and methods: To perform this research, the Niger seeds (contain 40% oil) was prepared from local market of Fars Province (Iran). Then the external materials such as weed seeds, sand and stones were separated and removed manually and the seeds were treated with microwave pre-treatment with power of 900W and different procedure times (100 and 200 seconds), and pulsed electric field with two levels of electric field intensities of (250 and 500 kV/cm with 30 pulses). After performing these treatments, the seeds oil was extracted with screw press at the speed of 34 rpm then various experiments, such as the efficiency amount of oil extraction, refractive index, total phenolic compounds, oxidative stability, protein and ash of meals, were performed on the oil in a complete random model with three repetitions.

Results and discussions: The comparing group mean test with Duncan's method indicated that applying pulsed electric fields and microwave pre-treatments in lower times and intensities caused an increase in extraction efficiency. But with increase in the microwave time and also increase in the intensity of pulsed electric field, the efficiency of oil extraction was decreased in such a manner that when a pulsed electric field with intensity of 500 kV/m was used, the oil extraction had the lowest extraction efficiency. The increase of oil extraction efficiency using microwave can be related to more fracture or disintegration of cells which contain oil during treating with microwave. The reason for increase in the efficiency of oil extraction using the pulsed electric fields can be attributed to the electrical decomposition of cells and more permeability of them. A decrease in the oil extraction efficiency with excessive increase in the microwave time and intensity of electric field is probably attributed to more degradation of seeds internal structure and closure of oil outlet duct. Analysis of data obtained from oils refractive index indicated that the pre-treatment type didn't have any significant influence on the oils refractive index ($P>0.05$) and the amount of refractive index was 1.478 for all of the measured samples (figure 2). Applying various pre-treatments, caused an increase in the amount of total phenol and oxidative stability of oils in the manner that the maximum amount of total phenol and oxidative stability was obtained from pulsed electric field pre-treatment with the intensity of 500 kV/m. The amount of tocopherol and antioxidant compounds can be the reason for this observation because of applying these pre-treatments. Variance analysis of data obtained from performing tests and experiments indicated that the influence of pre-treatment type on the amount of protein and meals ash was completely significant ($P<0.01$). Comparison of the means in data obtained from experiments showed that the maximum and minimum amount of protein and meals ash in the treated sample was obtained with 100 seconds microwave and the pulsed electric fields with 500 kV/m intensity, respectively, in other words, applying various treatments (in low times and electric field intensities of microwave and pulsed electric fields) in oil extraction

1. Department of Food Science and Technology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
3. Department of Chemistry, Gonbad Kavoos Branch, Islamic Azad University, Gonbad Kavoos,Iran
(* Corresponding author E-mail: mirzaeii.habib@gmail.com)

led to an increase in the amount of protein and ash in comparison with non-treated sample and the reason of this fact can be attributed to the more extraction of oil from seeds and consequently an increase in the % protein and ash remained in the meals. Finally, the results of this research indicated that applying microwave (for 100 seconds) and pulsed electric field (with electric field intensity of 250 kV/m) can be very useful in extracting oil from Niger seed because of increase in the extraction efficiency and also increase of useful compounds in oil.

Key words: oil extraction, Niger seeds, microwave, meals, pulsed electric field.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 497-506

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر- آبان 1398، ص. 506-497

ارزیابی پارامترهای شیمیایی لازم برای اصالت‌سنجی آبلیمو ترش تجاری

زهرا علائی روزبهانی*

تاریخ دریافت: 1396/02/26
تاریخ پذیرش: 1396/10/20

چکیده

امروزه یکی از اصلی‌ترین مشکلات در تولید و بازارمصرف آب لیمو کشورشناسایی تقلبات در این فرآورده است. هدف از این تحقیق بررسی پارامترهای شیمیایی لازم برای شناسایی تقلبات در این صنعت است .بدین منظور در این تحقیق پارامترهای تعریف شده در استاندارد تدوین شده در سال 2016 توسط انجمن آبمیوه و نکتار اتحادیه اروپا برای اصالت‌سنجی آب لیموترش انتخاب شد و برروی 10 نمونه تجاری و 3 نمونه طبیعی این پارامترها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهدکه وزن مخصوص نمونه‌هادر محدوده1/040-1/030 می‌باشد و اسیدیته نمونه‌ها بین6/67-55 (گرم بر لیتر) متغیر است. قند گلوگز برای نمونه‌ها بین 12/7-1/48 (گرم بر لیتر) در حالی که مقدار فروکتوز 9/81-0/13 (گرم بر لیتر) می‌باشد و بیشترین مقدار مواد معدنی مربوط به پتاسیم1350- 10 (میلی‌گرم بر لیتر) و پس از آن سدیم ،کلسیم، فسفر و منیزیم می‌باشد که مقدار آنها به‌ترتیب 907-63 ،172-33/1، 135-صفر و 75/4-10 (میلی‌گرم بر لیتر) می‌باشد. در نمونه‌ها رنگ سنتزی و مواد نگهدارنده (اسید بنزوئیک و سوربات) مورد بررسی قرار گرفت که در تمامی نمونه‌ها مقدار قابل تشخیصی گزارش نشد. نتایج نشان می‌دهد 9 نمونه از 10 نمونه تجاری در بیش از یک فاکتور با حدود تعریف شده در استاندارد اتحادیه اروپا برای آب لیمو تجاری مطابقت ندارند (به عبارتی 9 نمونه از نمونه‌های تجاری تقلبی می‌باشند) لذا پیشنهاد می‌گردد این پارامترها در تجدید نظر استاندارد ملی به‌منظور بهبود روش تشخیص آب لیمو تقلبی در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی:آب لیموترش ،اصالت‌سنجی، پروفایل قندها، پارامترهای شیمیایی

مقدمه

لیموترش منبع غنی ازفلاونوئیدها، اسید سیتریک و ویتامین ث است که این ترکیبات دارای خواصی درمانی و تغذیه‌ای است که سلامتی را ارتقا می‌دهد (Kuljarachanan*et al.*,2009). تولید مرکبات از جمله لیموترش به دلیل حساسیت محصول به دمای پایین محدود به مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان می‌شود تولید سالیانه مرکبات 104 میلیون تن درسال است. اصلی‌ترین کشورهای تولیدکننده مرکبات برزیل، چین و هند می‌باشند (Agustí*et al.*,2014) کشور ایران با تولید بیش از 400 هزارتن لیموترش در سال رتبه ششم جهانی را در تولید لیموترش به‌خود اختصاص داده است که بیشترین سهم تولید مربوط به استان فارس می‌باشد.

اصالت و ایمنی مواد غذایی یکی از مسائل پر اهمیت هم برای تولیدکنندگان و هم مصرف‌کنندگان می‌باشد. مواد غذایی تولید شده می‌بایست مطابق با الزامات قانونی باشد تقلب در مواد غذایی از یک سو باعث اثرات منفی برروی تغذیه، سلامت و اقتصاد مصرف‌کنندگان دارد از سوی دیگر باعث برهم زدن تعادل در بازار مصرف شده که در نهایت منجر به تخریب اقتصاد منطقه خواهد شد. محصولات گران قیمت و محصولات تقلبی با هم ادغام شده و سود غیرمنصفانه‌ای از محصولات تقلبی با فریب دادن مصرف‌کننده به‌دست می‌آید (Tosun*et al.*, 2012). امروزه یکی از اصلی‌ترین مشکلات در تولید و بازار آب لیمو مربوط به تولید آبلیموی تقلبی در کشور است تقلب در تولید آب میوه یکی از مشکلات جهانی است که طی 30 سال گذشته تحقیقات زیادی در خصوص شناسایی انواع تقلبات در این صنعت صورت گرفته است. که از این تقلبات می‌توان رقیق کردن آب میوه با آب (Boland,1988)، اضافه کردن قند (Brause *et al.*,1987)، افزودن مواد اسیدی و آروما (Richard,1978; Benk,1976;)، مخلوط کردن با آب میوه‌های ارزان قیمت (Iranzo,1977) به عنوان مثال استفاده از آب میوه سیب در تهیه آب انگور اشاره کرد که جهت شناسایی این تقلبات بررسی فاکتورهای غیرآلی مثل اندازه‌گیری سدیم، پتاسیم، کلسیم و فسفر و فاکتورهای آلی مانند قندها و اسیدآمینه‌ها و اسیدهای آلی پیشنهاد شده است (Singhal*et al.*,1997). در سال 2014 محققین به‌منظور بررسی کیفیت و اصالت‌سنجی آب لیموی تولیدی در کشور اسپانیا و همچنین

1- مربی، گروه علوم و صنایع غذایی، پژوهشگاه استاندارد، سازمان ملی استاندارد، ایران.

(* - نویسنده مسئول: Email: z.alaei58@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.64465

بررسی ویژگی‌های آب لیمو تولید شده از دو واریته اصلی کشت شده در کشور اسپانیا از استاندارد ارائه شده توسط اتحادیه اروپا استفاده کردند (AIJN, 2013). در این تحقیق دو واریته اصلی کشت شده در کشور اسپانیا به همراه نمونه‌های تجاری تولیدی در این کشور با استاندارد ارایه شده توسط انجمن آب میوه و نکتار اتحادیه اروپا مورد مقایسه قرار گرفته شده است. نتایج نشان می‌دهد آب لیمو تولید شده توسط تولیدکنندگان در این کشور از نظر کیفیت و اصالت با این استاندارد بین المللی مطابقت دارد (Lorente*et al*.,2014). هم راستا با این تحقیق در سال 2014 از روش‌های تکمیلی جهت شناسایی و تشخیص نوع اسید و منشاء قند در آب لیمو ترش تولیدی بر اساس روش‌های تعیین نسبت ایزوتوپی کربن و هیدروژن ارائه شدکه این روش‌ها به‌عنوان یک روش تکمیلی در کنار اندازه‌گیری ترکیبات آلی و غیرآلی آب میوه که توسط انجمن تولیدکنندگان آب میوه و نکتار اتحادیه اروپا پیشنهاد شده است (Guyon*et al*., 2014). در سال 2014 محققین در اسپانیا مجددا پارامترهای شیمیایی تعریف شده از طرف این انجمن جهت اصالت‌سنجی آب انار رابرای نمونه‌های تجاری تولید شده در این کشور مورد ارزیابی قرار دادند که نتایج بر روی 8 نمونه تجاری نشان داد حدود تعریف شده برای این پارامترهای شیمیایی مطابق با حدود به‌دست آمده برای نمونه‌های تجاری موجود در سطح بازار کشور اسپانیا می‌باشد (Vegara *et al*., 2014). این انجمن در سال 2016 آیین کار مرجع مربوط به آب لیموترشی را تدوین نموده است که با واریته‌های لیموترش کشت شده در کشور ایران (Persian lime) *Citrus Latifolia* مطابقت دارد (AIJN, 2016). از آنجایی که تاکنون مقایسه‌ای بین نمونه‌های تولیدی در کشور با این استاندارد صورت نگرفته است از طرفی تشخیص تقلبات در صنعت آب لیمو وشناسایی آب لیموی طبیعی از سنتزی یکی ازچالش‌های کشور است در این تحقیق به بررسی اصالت آب لیموهای تجاری تولیدی در سطح کشور بر اساس آیین کار مرجع انجمن تولید کنندگان آب میوه و نکتار اتحادیه اروپا پرداخته شده است همچنین ویژگی آب لیمو تازه به‌دست آمده از بخش خوراکی واریته‌های لیمو ترش کشت شده در کشور با این استاندارد بین‌المللی مورد مقایسه قرار خواهد گرفت .

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از 10 نمونه با نام‌های تجاری مختلف تولید شده در کشور از سطح بازار نمونه‌برداری شده است همچنین سه نمونه لیمو از واریته اصلی کشت شده در کشور از محل عرضه این محصول خریداری شده و مطابق با روش آبگیری در صنعت این نمونه‌های لیمو آبگیری شده است. تمامی آزمون‌ها با 2 تکرار بر روی نمونه‌های آب لیمو تجاری و نمونه‌های طبیعی صورت گرفت .

در این تحقیق روش‌های انجام آزمون استاندارد اتحادیه اروپا[2] و استانداردهای تدوین شده توسط فدراسیون بین‌المللی آب میوه[3] و روش‌های آزمون پیشنهاد شده در کدکس 257[4]برای اصالت‌سنجی آب میوه‌ها می‌باشد که شماره استانداردهای روش‌های آزمون به شرح ذیل می‌باشد:

اندازه‌گیری سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم با دستگاه جذب اتمی بر اساس روش استاندارد اتحادیه اروپا به شماره 1134:1994.

اندازه‌گیری قند گلوکز، فروکتوز و ساکاروز با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به دتکتور RI بر اساس روش استاندارد اتحادیه اروپابه شماره 12630:2000.

اندازه‌گیری مقدار فسفر کل با دستگاه اسپکتروفوتومتر بر اساس روش استاندارد اتحادیه اروپا به شماره 1136.

اندازه‌گیری اسیدیته فرار بر اساس روش استاندارد فدراسیون بین‌المللی آب میوه به شماره 5.

اندازه‌گیری عدد فرمالین بر اساس روش استاندارد فدراسیون بین‌المللی آب میوه به شماره 30.

اندازه‌گیری بریکس بر اساس روش استاندارد فدراسیون بین‌المللی آب میوه به شماره 8.

اندازه‌گیری وزن مخصوص بر اساس روش استاندارد فدراسیون بین‌المللی آب میوه به شماره 1.

هیدروکسی متیل فورفورال بر اساس روش استاندارد فدراسیون بین‌المللی آب میوه به شماره 69.

اندازه‌گیری عصاره بدون قند بر اساس روش ارائه شده در تحقیق ارائه شده بر روی انارمی‌باشد (Vegara *et al*., 2014). که عبارتند از:

(1) قندها (گلوکز+ فروکتوز+ ساکارز)- مواد جامد محلول= عصاره بدون قند(گرم بر لیتر)

اندازه‌گیری نگهدارنده‌ها سوربات و بنزوات با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بر اساس روش استاندارد ملی به شماره 11130.

اندازه‌گیری رنگ مصنوعی به‌وسیله کروماتوگرافی لایه نازک بر اساس روش استاندارد ملی به شماره 2634.

اندازه‌گیری اتانول بر اساس روش استاندارد ملی به شماره 2685.

اندازه‌گیری فلزات سنگین به‌وسیله دستگاه جذب اتمی بر اساس روش استاندارد ملی به شماره 9265.

2 EN
3 IFU
4 CODEX257

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمامی این ویژگی‌ها در دو تکرار مورد اندازه‌گیری قرار گرفته شده است و جهت محاسبه میانگین و انحراف استاندارد از نرم‌افزاراکسل استفاده شده است.

نتایج و بحث

پارامترهای کیفی مربوط به کیفیت آب لیموترش‌های تولیدی

نتایج بررسی پارامترهای بریکس، وزن مخصوص، اسیدیته، اتانول، فلزات سنگین و هیدروکسی متیل فورفورال که به‌عنوان فاکتورهای شیمیایی جهت بررسی کیفیت آب لیموترش می‌باشد در جدول 1 آورده شده است .بر اساس تحقیقات انجام شده توسط محققین مشخص شد بریکس که مواد جامد محلول در آب است را می‌تواند به‌عنوان فاکتوری در تشخیص قند افزوده به آب مرکبات به‌کار گرفت (Singhal*et al*,. 1997). همچنین محققین نشان دادند که بریکس و اسیدیته در کنار مقدار قند در نمونه می‌تواند به‌عنوان فاکتوری جهت تشخیص آب افزوده در آب میوه‌ها به‌کار گرفته شود (Iranzo*et al*,. 1977). بر اساس نتایج به‌دست آمده بریکس برای نمونه‌های تجاری بین6/62-9/26 می‌باشد که بر اساس استاندارد اتحادیه اروپا بریکس حداقل 7/5 برای آب لیموترش تازه و حداقل 9 برای آب لیموترش تهیه شده از کنسانتره می‌باشد که در بین این نمونه‌ها یک نمونه کمتر از حدود تعریف شده می‌باشد از طرفی با توجه به اینکه بر روی نمونه‌ها قید شده آب لیموترش تازه می‌باشد حداقل 7/5 به‌عنوان معیار پذیرش در نظر گرفته شده است. لذا نتایج نشان می‌دهد این نمونه با آب رقیق شده است. لازم به یادآوری است حدود تعریف شده توسط استاندارد اتحادیه اروپا برای تمامی پارامترها بر اساس کلیه واریته‌های کشت شده در سراسر دنیا تعیین شده است (AIJN, 2016).

وزن مخصوص اگرچه یک فاکتور کیفی می‌باشد اما محققین ثابت کردند این فاکتور می‌تواند جهت تشخیص آب افزوده در آب میوه‌های طبیعی استفاده شود و نسبت تغیرات وزن مخصوص به درصد رقیق‌سازی یک نسبت خطی است اما در صورتی که این نسبت از حالت خطی خارج شود نشانه این است که در تهیه آب میوه از سایر قسمت‌های میوه مثل پوست یا پالپ میوه استفاده شده است (Lovacheva*et al*., 1974). در مورد وزن مخصوص حدود وزن مخصوص بین 1/030-1/040 می‌باشد که مقدار قابل قبول برای آب لیموترش تازه بر اساس استاندارد انجمن آب میوه و نکتار اتحادیه اروپا 1/0289 می‌باشد. لذا تمامی نمونه‌ها در حدود تعریف شده قرار می‌گیرند (AIJN, 2016).

اسید سیتریک مهمترین اسید در آب لیموترش است که اسیدیته، مقدار این اسید را در آب لیموترش نشان می‌دهد (AIJN, 2016). تحقیقات نشان می‌دهد این پارامتر نیز می‌تواند در تشخیص آب افزوده در کنار فاکتورهایی مثل مقدار قند و عصاره بدون نیتروژن به‌کار گرفته شود (Singhal *et al*,1997). همچنین قیمت آب لیموترش و کنسانتره آن بر اساس اسیدیته قابل تیتر تعیین می‌شود بنابراین یکی از تقلب می‌تواند افزودن اسید سیتریک باشد (Directive, 1995; Directive, 2001). بر اساس استاندارد اتحادیه اروپا حدود قابل قبول برای این پارامتر 55-67/6 گرم در لیتر بر حسب اسید سیتریک است که نتایج نشان می‌دهد کلیه نمونه‌ها در این حدود قرار می‌گیرند (AIJN, 2016).

در خصوص اسیدیته فرار و اتانول، ازآنجایی که در میوه سالم اسید استیک و اتانول وجود ندارد این دو فاکتور می‌تواند نشان‌دهنده فساد توسط باکتری‌های اپیفیتیک مثل مخمرها و اسید استیک باکتری‌ها باشد. لذا محققین نشان دادند مقدار کم این دو ترکیب می‌تواند نشان‌دهنده کیفیت خوب میوه استفاده شده در تهیه آب میوه باشد از طرفی نشانه روش فراری مناسب آب میوه است بدون اینکه طی فرآوری فرایند تخمیری بر روی آب میوه صورت گرفته باشد (Vegara *et al*., 2014). مقدار اسیدیته فرار نمونه‌ها 0/1-0/3 و اتانول 0/08-0/15 می‌باشد.

فلزات سنگین موجود در کودهای شیمیایی و خاک‌های آلوده می‌تواند به میوه‌ها و سایر فرآورده‌های کشاورزی منتقل شود از میان فلزات سنگین تعدادی از آنها اثرات جدی برروی سلامت انسان دارند که این گروه می‌توان به آرسنیک، سرب، جیوه، کادمیوم و کروم اشاره کرد (Lorente *et al*., 2014). لذا این فلزات در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته شد که نتایج در جدول 1 گزارش شده است نتایج نشان می دهد مقدار آنها برای همه نمونه‌ها کمتر از مقدار ماکزیمم تعیین شده می‌باشد.

هیدروکسی متیل فورفورال به‌طور معمول در آب لیمو تازه وجود ندارد اما طی نگهداری نمونه‌ها در اثر واکنش مایلارد،کاراملیزاسیون و در نهایت تجزیه ترکیبات حاصل از این دو واکنش به‌دست می‌آیند و فرایند حرارتی مقدار آن را تشدید می‌کند (Arena *et al*.,2005). مقدار هیدروکسی متیل فورفورال در تمام نمونه‌ها کمتر از حداکثر مقدار تعریف شده توسط اتحادیه اروپا قرار دارد (AIJN, 2016).

امروزه یکی از روش‌های نگهداری استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی است که در میان انواع این نگهدارنده‌ها بنزوئیک اسید و سوربیک اسید و نمک‌های این دو اسید به‌صورت گسترده‌ای در این خصوص کاربرد دارند. محققان در سال 2002 مقدار اسکوربیک اسید و بنزوئیک اسید را درنمونه‌های تجاری مثل نوشیدنی‌های غیرالکلی، آب میوه‌ها، مارگارین، ماست و پنیر بررسی کردند نتایج نشان می‌دهد که مقدار این نگهدارنده‌ها در کلیه نمونه‌های بررسی شده پایین‌تر از مقدار حداکثر مجاز استانداردهای کشور برزیل می‌باشد (Tfouni*et al*.,2002). مقدار مجاز این دو نگهدارنده بر اساس استاندارد JECFA به ازای هر کیلوگرم وزن بدن محاسبه شده است. در هر کشور بر این

اساس مقدار مجاز برای هر فرآورده مشخص شده است (WHO,1987) که بر اساس استاندارد ملی ایران استفاده از این دو نگهدارنده در آب میوه‌ها غیرمجاز می‌باشد. نتایج بررسی نشان می‌دهد کلیه نمونه‌ها فاقد این نگهدارنده می‌باشند.

جدول 1- پارامترهای شیمیایی لازم جهت ارزیابی کیفی آب لیمو

پارامترهای کیفی	واحد	میانگین ±انحراف استاندارد	محدوده نتایج	حدود قابل قبول بر اساس استاندارد اروپا
وزن مخصوص	-	1/033±0/0034	1/030-1/040	حداقل 1/0298
بریکس	°Brix	8/021±0/72	6/62-9/26	حداقل7/5
اسیدیته فرار	g/l	0/13±0/076	0/1-0/3	حداکثر0/4
اسیدیته	g/l	61/5±4/8	55-67/6	50-90
اتانل	g/l	0/12±0/026	0/08-0/15	حداکثر3
آرسنیک	mg/kg	<0/05		حداکثر0/1
سرب	mg/kg	<0/01		حداکثر0/05
جیوه	mg/kg	<0/01		حداکثر0/010
کادمیوم	mg/kg	<0/01		حداکثر0/020
هیدروکسی متیل فورفورال	mg/l	0/94±0/5	0-2	حداکثر20
روغن های فرار	mg/l	0/5±0/13	0/21-0/65	حد ماکزیمم تعریف نشده است به دلیل آنکه در تولید از کل میوه ممکن است استفاده شود
سوربیک اسید	mg/l	غیر قابل تشخیص	غیر قابل تشخیص*	-
بنزوئیک اسید	mg/l	غیر قابل تشخیص	غیر قابل تشخیص	-
انیدروسولفورو	mg/l	4/4±2/61	0/32-8/6	-
رنگ مصنوعی	mg/l	غیر قابل تشخیص	غیر قابل تشخیص	-

سولفور دی‌اکسید، سولفیت‌ها و متا بی‌سولفیت‌ها نیز به‌عنوان یک افزودنی غذایی می‌باشند که جهت جلوگیری از فعالیت آنزیم‌ها و جلوگیری از قهوه‌ای شدن آنزیمی استفاده می‌شود (Paulo *et al*.,2011). نتایج بررسی‌ها در سال 2016 نشان می‌دهد مقدار انیدرو سولفور در فرآورده‌های استفاده شده کمتر از مقدار مجاز تعریف شده توسط استانداردها می‌باشد همچنین بررسی این افزودنی در کشور تایوان نشان می‌دهد از این افزودنی بیشتر در این کشور در تولید آب میوه‌ها و میوه‌های خشک استفاده می‌شود (Keng-Wen*et al.,* 2016). این ترکیبات در غلظت‌های بالا می‌تواند اثرات مضر بر سلامت انسان داشته باشند (Leclerq*et al*., 2000). لذا مقدار این افزودنی در فرآورده‌های مختلف در بسیاری از کشورها به‌طور معمول کنترل می‌شود (Leclerq*et al*., 2000; Paulo et al. *et al*., 2011). بر اساس استاندارد ملی آب لیمو ترش مقدارحداکثر مجاز این افزودنی 10 میلی‌گرم در لیتر می‌باشد که بر اساس نتایج همه نمونه‌ها در محدود مجاز استاندارد می‌باشند.

از آنجایی که استفاده از رنگ‌های خوراکی اثراتی بر روی سلامت مصرف‌کننده به همراه داشته باشد مثل بروز بیش فعالی در کودکان لذا هر کشوری جهت استفاده از این رنگ‌ها استانداردهایی تعریف نموده‌اند (Scotter, 2015)، که در ایران بر اساس استاندارد ملی آب میوه‌ها استفاده از هرگونه رنگ خوراکی به‌عنوان افزودنی در این فرآورده غیرمجاز می‌باشد. بررسی این پارامتر در نمونه‌های تجاری نشان می‌دهد تمامی این نمونه‌ها فاقد رنگ افزوده می‌باشند.

پارامترهای شیمیایی مربوط به اصالت‌سنجی آب لیموترش‌های تولیدی

پارامترهای بررسی شده از این بخش شامل بررسی ترکیبات غیرآلی مثل سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر می‌باشد، که نتایج به‌دست آمده برای این ترکیبات در جدول شماره 2 آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد از بین 10 نمونه تجاری 7 نمونه تجاری مقدار فسفر کمتر از حدود تعریف شده بود و فقط 3 نمونه تجاری و هر 3 نمونه طبیعی مطابق با استاندارد مربوطه می‌باشند. در مورد پتاسیم 5 نمونه از نمونه‌های تجاری در محدوده استاندارد نمی‌باشند و در مورد منیزیم همه نمونه‌های تجاری خارج از محدوده تعریف شده استاندارد می‌باشند و فقط یک نمونه تجاری و کل نمونه‌های طبیعی در محدوده قابل قبول

این فاکتور قرار دارند. در مورد کلسیم 3 نمونه از نمونه‌های تجاری خارج از محدود تعریف شده قرار گرفته‌اند. در مورد سدیم مقدار این عنصر در تمامی نمونه‌ها هم طبیعی و هم تجاری بالاتر از حد مجاز تعریف شده می‌باشد. که در سال 2016 مقدار گزارش شده برای سدیم نمونه‌ها طبیعی تولید شده در کشور اسپانیا نیز بالاتر از حد تعریف شده توسط استاندارد اتحادیه اروپا به‌دست آمد که علت آن را محققان آب و خاک مناطق کشت شده می‌دانند (Lorente*et al.*,2014). لذا پیشنهاد می‌شود که مقدار این فاکتور بالاتر از این مقدار در نظر گرفته شود از طرفی بین مقدار سدیم نمونه‌های طبیعی با نمونه‌های تجاری اختلاف زیادی مشاهده می‌شود که دلیل آن استفاده از متابی سولفیت سدیم جهت جلوگیری از قهوه‌ای شدن می‌باشد که باعث افزایش قابل ملاحظه در مقدار سدیم گزارش شده در نمونه‌های تجاری شده است (AFJA, 2009). تحقیقات توسط محققین در سال‌های مختلف نشان داد که مقدار مواد معدنی نشان‌دهنده محتوی آب میوه به‌کار رفته در تهیه این آب میوه می‌باشد به‌عنوان مثال محققان نشان دادند که اندازه‌گیری خاکستر، پتاسیم و فسفر می‌توانند درصد آب میوه به‌کار رفته در تولید آب میوه‌ها را تعیین کند. همچنین ثابت شد چون مقدار فسفر و خاکستر به منطقه جغرافیایی و خاک وابسته نمی‌باشند (Tikka *etal.*,1947). پس می‌توانند فاکتورهای خوبی جهت تفسیر آب اضافه شده در تهیه آب میوه‌ها باشند. محققین همچنین نشان دادند نسبت پتاسیم به کلسیم و نسبت پتاسیم به منیزیم را به‌عنوان یک شاخص جهت بررسی تقلبات آب میوه‌ها است. یا اینکه در سال 1981 ثابت شد مقدار پتاسیم، فسفات، عدد فرمالین می‌تواند به‌عنوان شاخص اندازه‌گیری محتوای میوه در آب میوه‌هایی که حداقل 6 درصد از میوه تشکیل شده‌اند در نظر گرفته شود (Singhal*et al*,1997). به عبارتی این پارامترها قادرند آب میوه‌هایی که حاوی فقط اسیدی کننده، طعم دهنده، مواد رنگی و شربت شکر باشند را مشخص کنند. همچنین با این فاکتورها می‌توان آب میوه‌هایی که 70-80 درصد محتوای میوه دارند را نیز شناسایی کنند (Vladimiorov,1972). لذا کم بود این فاکتورها در این 9 نمونه تجاری نشانه آب افزوده بالا در تهیه این نمونه‌ها است به‌عنوان مثال نمونه شماره یک که در تمامی فاکتورها اختلاف زیادی با حدود تعریف شده برای این فاکتورها دارد حاوی مقدار درصد آب بیشتری خواهد بود.

جدول 2- پارامترهای شیمیایی لازم جهت اصالت‌سنجی آب لیمو

	پارامترهای شیمیایی						
	خاکستر*	سدیم*	پتاسیم*	منیزیم*	کلسیم*	فسفر کل*	عددفرمالین
حدود قابل قبول	2/1-5	حداکثر 30	700-2100	60-120	45-200	60-160	5-26
تجاری کد1	3/2±0/51	835±91	11/1±1/7	10±1/4	50±7	27/38±4/6	30±4/8
تجاری کد2	3/8±0/57	765±91	600±84	28/5±3/9	75/8±9/8	72±10/8	30±4/2
تجاری کد3	3/2±0/44	902±109	30/7±4/9	15±2/4	75/4±9/6	3/7±0/5	30±4/9
تجاری کد4	3/7±0/59	195±24	1325±198	12/5±1/7	34±4/6	10/88±1/7	28±4/1
تجاری کد5	3±0/42	907±88	<10	16/5±2/4	35±4/5	0±0/03	30±4/5
تجاری کد6	3/4±0/54	291±29	1350±202	39/2±5/6	142/1±20	26/33±4/1	30±4/7
تجاری کد7	3/7±0/51	280±36	1070±171	53±6/8	172±24	123±18	18±2/8
تجاری کد8	3/7±0/56	885±84	390±54	17/5±2/4	71/2±9/2	28/62±4/5	28±3/9
تجاری کد9	4/3±0/59	277±31	1120±156	68/5±8/3	130±19/5	135±20	20±3/2
تجاری کد10	3/7±0/51	735±84	745±104	14/5±2	33/1±4/3	0±0/02	30±4/6
طبیعی کد1	4/1±0/63	95±9/8	1079±161	69/7±9	89±13	95±13	18±2/9
طبیعی کد2	3/9±0/48	63±7	1051±147	75/4±10	76/3±10/5	112±17/7	19/5±3/2
طبیعی کد3	4/2±0/60	76±8/4	1079	72/2	133/5±18/5	85	18±3/0

* واحد اندازه‌گیری: میلی‌گرم بر لیتر

قندهای موجود در آب لیموترش طبیعی گلوگز، فرکتوز و ساکارز می‌باشند که بر اساس واریته‌های مختلف حدود مشخصی برای هر کدام از این قندها در آب لیموترش طبیعی تعریف شده است (AIJN, 2016). قندها به دلایل مختلفی مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. در سال 1988 ثابت کردند که اندازه‌گیری قندها در آب میوه‌ها می‌تواند در تشخیص تقلباتی مثل آب افزوده، شناسایی قند چغندری و شربت شکر کمک کنند. در سال 1993 محققان روش کروماتوگرافی مایع را جهت اندازه‌گیری قند افزوده تا مقدار یک درصد را پیشنهاد دادند و در سال 1992روش

اندازه‌گیری قند چغندری تا مقدار 6% در آب میوه را ارائه شد (Singhal*et al*., 1997). همچنین دانشمندان نشان دادند که یکی از روش‌های ارزیابی تقلبات در آب میوه‌ها علاوه بر اندازه‌گیری قندها می‌تواند بررسی نسبت دو قند گلوگز به فروکتوز باشد زیرا ثابت شد نسبت هر قند به تنهایی به قند کل در آب میوه‌های طبیعی بسیار متغییر است اما نسبت گلوگز و فروکتوز نسبتا ثابت است به‌طوری که از این فاکتور می‌توان جهت بررسی قند افزوده استفاده کرد. از طرفی با تعیین نسبت دو قند گلوگز و فروکتوز علاوه بر تشخیص قند افزوده می‌تواند فساد میکروبی در نمونه‌ها را نیز بررسی کرد. در خصوص عصاره بدون قند تحقیقات نشان داد این فاکتور می‌تواند افزودن سایر قندها به آب میوه را تفسیر کند (AFJA, 2009). به‌عنوان مثال محققین ثابت کردند که مقدار گلوکز بالاو به تبع آن عصاره بدون قند بالا می‌تواند نشان‌دهنده اضافه کردن شربت گلوگزی باشد که به‌طور کامل هیدرولیز نشده است. از طرفی ثابت شد اگر به‌طور همزمان مقدار کلسیم بالا و فروکتوز در آب میوه پایین باشد می‌تواند به دلیل استفاده از مالتوز به‌عنوان شیرین‌کننده‌ها در آب میوه باشد (Niedmann,1976). لازم به یادآوری است که بررسی قند افزوده در انواع آب میوه‌ها از سال 2013 در استانداردهای اروپایی گنجانده شده است (Directive, 2012). لذا در کنار فاکتورهای غیرآلی بررسی قندهای گلوگز، فروکتوز، ساکارز و عصاره بدون قند به‌عنوان قسمتی از ترکیبات آلی آب لیمو ترش مورد ارزیابی قرار گرفته شده است که نتایج در جدول 3 نمایش داده شده است. نتایج نشان می‌دهد فقط سه نمونه تجاری از نظر قند فروکتوز در محدود تعریف شده قرار ندارند از طرفی نسبت این دو قند فقط برای 3 نمونه تجاری و 3 نمونه طبیعی مطابق با استاندارد است و برای عصاره بدون قند 4 نمونه تجاری از حدود تعریف شده توسط انجمن آب میوه و نکتار اتحادیه اروپا پیروی نمی‌کنند (AIJN, 2016) .

جدول 3- ارزیابی مقدار قندهای گلوگز، فروکتوز و ساکارز درنمونه مورد آزمون جهت اصالت سنجی آب لیمو

	گلوگز	فروکتوز	نسبت گلوگز به فروکتوز	ساکارز	عصاره بدون قند
حدود قابل قبول	**1-15**	**1-15**	**0/85-1**	**حداکثر5**	**70-90**
تجاری کد1	12/7±1/3	9/58±1/1	1/3±0/03	0	61/72±3/39
تجاری کد2	2/9±0/3	2/62±0/3	1/1±0/013	0	78/57±0/58
تجاری کد3	1/48±0/2	0	-	0/96±0/13	77/89±0/46
تجاری کد4	2/4±0/28	0/13±0/01	18/2±1/43	4/14±0/53	72/6±2/1
تجاری کد5	7/3±0/9	7/2±0/86	1/0±0/001	3/49±0/51	61/43±1/6
تجاری کد6	3/47±0/4	0/71±0/08	4/8±0/02	4/18±0/6	75/8±2/8
تجاری کد7	3/96±0/5	3/62±0/43	1±0/01	0	77/2±0/89
تجاری کد8	10/3±1/2	9/5±1/1	1/1±0/01	0	66/3±1/7
تجاری کد9	10/69±1/8	9/81±1/5	1/0±0/01	0	73/2±3
تجاری کد10	9/04±1/3	8/67±0/95	1/1±0/08	4/65±0/65	59/95±2/5
طبیعی کد1	8/5±1	7/95±0/85	1/0±0/012	0	71/9±1/8
طبیعی کد2	10/41±1/5	9/63±1/1	1/0±0/02	3/49±0/48	72/4±2
طبیعی کد3	2/6±0/3	2/45±0/26	1/0±0/001	3/49±0/5	71/41±1/4

* واحد اندازه‌گیری: گرم بر لیتر

نتیجه‌گیری

در این تحقیق کلیه پارامترهای غیرآلی و بخشی از ترکیبات آلی تعریف شده جهت اصالت‌سنجی آب لیمو ترش توسط انجمن آب میوه و نکتار اتحادیه اروپا مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت نتایج نشان داد تمامی نمونه‌های تجاری به جز یک نمونه تجاری در بیش از یک فاکتور با این استاندارد مطابقت ندارند و از طرفی تمامی نمونه‌های طبیعی در تمامی این فاکتورها به‌جز سدیم با استاندارد اتحادیه اروپا مطابقت دارد. لذا پیشنهاد می‌شود این استاندارد به‌عنوان استاندارد مرجع ملی جهت بررسی اصالت آب لیموهای تولیدی در سطح کشور مورد استفاده قرار گیرد فقط در مورد فاکتور سدیم پیشنهاد می‌شود حدود تعریف شده برای این فاکتور افزایش یابد و یا مانند استاندارد استرالیا از استاندارد مربوطه حذف گردد.

منابع

استاندارد ملی ایران شماره 2685؛ آب میوه‌ها- روش‌های آزمون.
استاندارد ملی ایران شماره 9265؛ مواد غذایی- اندازه‌گیری سرب، کادمیوم، مس، آهن، روی- روش طیف‌سنجی جذب اتمی.

استاندارد ملی ایران شماره 2685؛ آب میوه‌ها– روش‌های آزمون..
استاندارد ملی ایران شماره 11130؛ مواد غذایی- اندازه‌گیری آسه سولفام-کا، آسپارتام و ساخارین به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا.
استاندارد ملی ایران شماره 2634؛ افزودنی‌های خوراکی مجاز- رنگ‌های مصنوعی در مواد خوراکی- شناسایی به روش کروماتوگرافی لایه نازک- روش آزمون.

AFJA (Australian Fruit Juice Association).(2009). Reference guideline for lemon.

Agustí, M., Mesejo, C., Reig, C., Martínez-Fuentes, A.(2014). Citrus production. Horticulture Plants for People and Places . vol. 1. Springer, Netherlands, pp. 159–195.

AIJN (Association of the Industry of Juices and Nectars of the European Union). (2016). Code of practice for evaluation of fruit and vegetable juices 6.26.Reference guideline for lime.

AIJN (Association of the Industry of Juices and Nectars of the European Union) .(2013). Code of practice for evaluation of fruit and vegetable juices 6.6. Reference guideline for lemon.

Arena, E., Fallico, B., &Maccarone, E. (2001). Thermal damage in blood orange juice: Kinetics of 5-hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde formation. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 145–151.

Benk, E., (1976). *Minerulbrunnen*, 26(12):385-388.

Boland, EE. (1988). J*Assoc. 0ff; c.* Anal. *Chem.* 71(1):86-87

Brause, A., Doner, L. and Raterman, J.(1987). *Food Prod. Manag.* 109(8):20-21.

Cordella, C., Moussa, I., Martel, A. C., Sbirrazzuoli, N., &Cuvelier, L. L. (2002). Recentdevelopments in food characterization and adulteration detection: Technique –oriented perspectives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1751–1764.

Directive 01/112 (2001).European commission and council directive related to fruit juices and certains similar product intended for human consumption.

Directive 95/2/EC (1995).European parliament and council directive on food additives other than coulours and sweeteners.

Esteve, M. J., Frígola, A., Rodrigo, C., & Rodrigo, D. (2005). Effect of storage periodunder variable conditions on the chemical and physical composition and colour of Spanish refrigerated orange juices. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 1413–1422.

European committee for standardization (1994).Fruit and vegetable juices - Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium content by atomic absorption spectrometry (AAS), EN 1134.

European committee for standardization (1994).Fruit and vegetable juices - Fruit and vegetable juices - Determination of phosphorus content - Spectrometric method, EN 1136.

European committee for standardization .(1999).Fruit and vegetable juices - Fruit and vegetable juices - Determination of glucose, fructose, sorbitol and sucrose contents - Method using high performance liquid chromatography, EN 12630.

Guyon, F., Auberger, P., Gaillard, L., Loublanches, C., Viateau, M., Sabathié, N., Salagoïty, M., Médina, B. (2014). $13_C/12_C$ isotope ratios organic acids, glucose and fructose determined by HPLC-co- IRMS for lemon juices authenticity, *Food Chemistry* 146, 36–40.

IFU (International Fruit and Vegetable Juice Association, (2005). IFU Methods of analysis, Determination of Formol Number, IFUMA30.

IFU (International Fruit and Vegetable Juice Association, (2005). IFU Methods of analysis, Determination of Relative Density (Pycnometer Method), IFUMA01.

IFU (International Fruit and Vegetable Juice Association, (2005). IFU Methods of analysis, Determination of Volatile Acids, IFUMA05.

IFU (International Fruit and Vegetable Juice Association), (2005). IFU Methods of analysis, Determination of Hydroxymethylfurfural (HPLC), IFUMA69.

IFU (International Fruit and Vegetable Juice Association), (2017). IFU Methods of analysis, Determination of Soluble Solids (Indirect Method by Refractometry), IFUMA08.

Iranzo, R.J. and Peres Toran, M.J. (1977). Relationship between the Brix of citrus juices and their soluble chemical components. *Proceedzngs of the Internatzonal Society of Crtrzculture,* pp 791-795 *(Food Sa. Technol. Abs.* 13:4H 737).

Iranzo, R.J., PerisToran, M.J. and Grima, R, (1977). *Essenze Derzvatz Agrumarz,* 47(4):485-490.

Kuljarachanan, T., Devahastin, S., Chiewchan, N. 2009. Evolution of antioxidant compounds in lime residues during drying, *Food Chemistry* 113, 944–949.

Lambert, G. F., Lasserre, A. A., Azzaro-Pantel, C., Miranda-Ackerman, M., Vázquez, R. P., Salazar, M. R. P. (2015). Behavior patterns related to the agricultural practices in the production of Persian lime (*Citrus latifoliatanaka*) in the seasonal orchard.*Computers and Electronics in Agriculture,* 116, 162–172.

Leclerq, C., Molinaro, M. G., Piccinelli, R., Baldini, M., Arcella, D., &Stacchini, P. (2000). Dietary intake exposure to sulphites in Italy – analytical determination of sulphite-containing foods and their combination into standard meals for adults and children. Food Additives and Contaminants, 17(12), 979–989.

Lorente, J.,Vegara, S., Martì, N., Ibarz, A., Coll, L., Hernández, J. (2014). Chemical guide parameters for Spanish lemon (Citrus limon (L.) Burm.) Juices, *Food Chemistry*, 162, 186–191.

Lovacheva, G.N. and Eliarova, TS. (1974). *VoprosyPitaniya*No. 5:79-80.

Niedmann, P.D. (1976a). *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm*. 4(5):132-135.

Paulo, R. M., Welliton, D. P., Letícia, A.F. N., Emy, T., Koiti, A.,Henrique E. T., Lúcio A., Marilene De V.C. P.(2011).Fast and reliable analyses of sulphite in fruit juices using a supramolecular amperometric detector encompassing in flow gas diffusion unit. *Food Chemistry*, 127:249–255.

Richard, J.P. (1978). Ann. *Nutricion Aliment.* 32(5): 1021-1033.

Sapers, G. M., (1993). Browning of foods – control by sulfites, antioxidants, and other means. *Food Technology*, 47(10), 75–84.

Scotter, M. (2015). Colour Additives for Foods and Beverages, *Wood head Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*: Number 279.

Singhal, R. S., Kulkarni, P. R., Rege, D. V. (1997). Handbook of indices of food quality and authenticity, Cambridge, England.Chaptre3:77-119.

Tikka, J. and Johansson, L, (1947). *ValtionTek. Tutkimuslaitos, Tiedoitus*No.51, 5 pp.

Tosun, M., & Keles, F. (2012). Testing methods for mulberry pekmez adulterated with different sugar syrups. *Academic Food Journal*, 10(1), 17–23.

Vegara, S., Martí , N., Lorente, J., Coll, L., Streitenberger, S., Valero, M., Saura , D. (2014). Chemical guide parameters for Punicagranatum cv. 'Mollar' fruit juices processed at industrial scale, *Food Chemistry* 147, 203–208.

Vladimirov, *G.* (1972). *Nauchni Trudove, Vissh Institut PO Khranitelnai Vkusova Promyshlennost* .19 (1):59-72.

Directive 12/112/EC. (2012). Council directive relating to fruit juices and certain similar products intended for human consumption.

Sofos, J. N. (1995). Antimicro bialagents. In J. A. Maga, & A. T. Tu (Eds), Food additive toxicology. New York: Marcel Dekker. PP. 501-529.

WHO, (1987).Principles for the safety assessment of food additives and contamination in food. *Environmental Health Criteria*, 70.

Keng-Wen, L., Dennis P.H.H., Hui-Ying, H., Chiu-Hua, W., Shih-Pei, N., Min-Pei, L.(2016). Food safety risk assessment for estimating dietary intake of sulfites in the Taiwanese population.*Toxicology Reports*. 3, 544-551

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 497-506

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 506-497

Evaluation of chemical parameters for authenticity of commercial lime juice

Z. Alaei Roozbahani*

Received: 2017.05.16
Accepted: 2018.01.10

Introduction: Citrus fruits are rich sources of dietary fibre and bioactive compounds, including vitamin C, phenolics and flavonoids, with potential health-promoting properties. Nowadays citrus production is the main activity of the producers of fruit trees in the world (104 million tons, 7.1 _ 106 ha) and the countries with higher production are Brazil, China, India, USA, Mexico and Spain, as well as many other tropical and subtropical regions in the world. The authenticity and safety of food is of great importance to both producers and consumers. Foods must be produced in accordance with legal requirements. Adulterated foods affect the consumer negatively in terms of nutrition, health and economics; they cause an imbalance in the domestic market and furthermore, they cause harm to regional economics. The expensive production and consumption of adulterated foods is widespread. Profit is gained with the adulterate, the consumer is deceived as well. The adulteration of citrus juice is a significant worldwide problem. Fruit juices may have undergone dilution with water (Boland, 1988**),** addition of sugar (Brause et *al.*, 1987**),** acidification and aroma intensification (Benk, 1976**;** Richard, 1978**).** Addition of foreign substances to the juices or addition of juices from other fruits are the other fraudulent practices (Iranzo, 1977). The AIJN, Association of the Industry of Juices and Nectars of the European Union (EU), has established reference guidelines for several fruit juices, including lime. The referred values in these guidelines are based on pure, authentic fruit juices obtained from the edible part of mature and sound fruits of different varieties and geographical origins obtained by mechanical processes. The characterisation of Iranian lime juices by measuring their physicochemical quality parameters is of special interest to contrast them with the actual international standards: Codex Alimentarius and AIJN Code of practices. It is also very useful to detect adulteration or dilution of juices and to distinguish these high-quality juices. The aim of this study was to contribute to the knowledge of commercial lime juice and pure lime juice characteristics, the obtained parameters will be compared with the international standards.

Material and methods: Ten samples of lime juice were obtained from different fruit juice factories in 2016. Three samples were prepared in laboratory by pressing fresh fruits. All samples were analyzed in duplicate .A panel of different analytical techniques established by IFU (International Federation of Fruit Juice Producers, Paris, France), codex and ISIRI were used for determination of physicochemical parameters, organic and mineral contents in lime juices.

Results and discussion : Parameters that characterize the absolute quality requirements**:**According to these results, relative density of the all lime juice samples varied between 1.030 and 1.040.in all lime juice samples tested, relative density was higher than 1.0298, the maximum prescribed value by AIJN (2016). Titratable acidity of juices typically varied between 50 and 90 g/L calculated as anhydrous citric acid. In all lime juice samples tested, titratable acidity was found to be acceptable. Ethanol and volatile acids are not present in sound fruits; they are indicators of spoilage by epiphytic microorganisms such as yeasts, acetic acid bacteria (AAB) and lactic acid bacteria (LAB). The small amounts detected can be taken as an indication of the processing of good quality and absence of fermentation processes in juice. The amounts detected in juices from all samples was lower than the maximum (universal) limit of 0.4 g/L. Heavy metal elements contained in fertilizer and contaminated soils are transmitted into fruits and other farm produces. Heavy metal contents detected in all samples by atomic absorption spectrometry (AAS) were acceptable. 5-Hydroxymetylfurfural (5-HMF) is practically not present in fresh fruit juice, but it is naturally generated during heating or storage processes in the Maillard reaction as well as sugar caramelization and degradation. Therefore, 5-HMF can be used as an indicator for excess heat treatment and deterioration. In all lime juice samples tested, concentration of 5-HMF was much lower than 20 mg/L, the maximum prescribed value by AIJN. Synthetic color and preservative material such as sorbic and benzoic acids were also carry out. Values were not obtained for these parameters. Criteria relevant to the evaluation of identity and authenticity: Analysis of proteins, formol index, calcium, magnesium, sodium, potassium, phosphorus and sucrose have indicated ash, mineral elements and protein and formol index to be useful parameters for detection of adulteration. Ash and phosphorus content are fairly independent of regional variation and soil and are a fair criterion of added water in berry and fruit juices. The ash that represents the total mineral content of lime juice was between 2.84 and 3.85 g/L. The concentration of various elements in the tested samples were, in decreasing order, potassium (10-1350 mg/L) > sodium (63-907mg/L) > calcium (34–172 mg/L) >phosphorous (0-123 mg/L)>magnesium (10-75 mg/L).Potassium

Lecturer, food engineering and technology, Standard Research Institute, Iranian National Standards Organization.
(* Corresponding author E-mail: z.alaei58@gmail.com)

typically is the main mineral in lime. The finding of 1350 mg/L is consistent with this knowledge. Also 9 commercial samples did not reach the limits proposed by AIJN for more than one of these elements. The formol number, or formol titration, is merely an index which reflects the amount of free amino acid. It varied between 18 and 30 mL NaOH 0.1 N/100 mL. A chemical matrix method which allows identification of several compounds such as L-malic acid, chlorogenic acid and the fructose/glucose ratio, sucrose, fructose ,glucose can detect adulteration in apple and orange juices such as dilution with water, and addition of sugar, high fructose corn syrup, beet sugar and spent process water. Glucose, fructose and sucrose were detected and quantified in all juices tested. The presence of sucrose, glucose and fructose in lime juices varied between 0.0 - 4.6 g/L,1.48-12.7 and 0-9.8 respectively. 4 commercial samples did not reach the limits proposed by AIJN for these sugars.

Keywords: Lime juice, Authenticity, sugar profile, chemical parameters,

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 507-516

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 516-507

مقایسه اثر ضدقارچی عصاره و روغن سیاهدانه با ایمازالیل بر دو رقم سیب انباری

سودابه عین‌افشار*

تاریخ دریافت: 1397/09/28
تاریخ پذیرش: 1398/01/17

چکیده

در این پژوهش اثر نگهدارندگی عصاره و روغن سیاهدانه به‌عنوان یک ماده ضدمیکروب طبیعی با قارچ‌کش ایمازالیل در دو رقم سیب رد و گلدن دلیشس مقایسه شد. روغن سیاهدانه و عصاره آن به روش استخراج با حلال استخراج گردیدند و در دو غلظت 0/1 و 0/2 درصد بر دو رقم سیب رد و گلدن دلیشس محلول‌پاشی شدند. سیب‌ها به‌همراه نمونه‌های شاهد (نمونه حاوی ایمازالیل و بدون هیچ نوع افزودنی) به مدت 6 ماه در سردخانه صفر درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آزمون‌های شمارش کلی میکروبی، کپک و مخمر، سختی بافت، بریکس، اسیدیته، حسی، درصد ضایعات، رطوبت و ویتامین ث به مدت 6 ماه (هر ماه) انجام شد. نتایج نشان داد سیب رقم گلدن دلیشس با $8/16\times10^3$ عدد در مقایسه با رقم رد با $9/05\times10^3$ عدد ویژگی‌های میکروبی بهتر و بریکس (17/5)، رطوبت(80/07 درصد) و ویتامین ث (2/02mg/100g) بیشتری داشت اما بافت رقم رد با N 3/01 سخت‌تر، ضایعات (3/63 درصد) کمتر و پذیرش کلی (3/72) بالاتری داشت. اثر مواد ضدمیکروب بر بافت و اسیدیته ارقام سیب معنی‌دار نبود ولی بر مقدار ویتامین‌ث معنی‌دار ($P<0/05$) بود. طی انبارداری به مدت شش ماه، تمام نمونه‌ها با افت کیفی همراه بودند، به‌طوری‌که افزایشی در شمارش کلی میکروب‌ها (از $2/11\times10^3$ عدد در ماه اول به $15/33\times10^3$ عدد در ماه ششم) و کپک و مخمر (از 111 عدد در ماه اول تا $6/25\times10^3$ در ماه ششم) و کاهش معنی‌داری را در سایر پارامترهای کیفی نشان دادند. اثر مواد ضدمیکروب به‌کاررفته بر کپک و مخمر بیشتر از شمارش کلی میکروبی بود. در مقایسه با شاهد، نمونه‌های حاوی روغن و عصاره سیاهدانه میزان کپک و مخمر بسیار کمتری طی شش ماه نگهداری داشتند. به‌طورکلی می‌توان بیان کرد عصاره و روغن سیاهدانه به‌عنوان موادی جایگزین ایمازالیل یا مواد مشابه معرفی می‌گردند که توانایی ممانعت از گسترش فساد میکروبی سیب را دارند.

واژه‌های کلیدی: انبارداری، ایمازالیل، سیاهدانه، سیب رقم رد، سیب رقم گلدن‌دلیشس، ضد قارچ.

مقدمه

سیب و فراورده‌های آن نقش عمده‌ای در اقتصاد کشاورزی ایران دارند. میوه سیب، پس از انگور، مهمترین محصول باغی کشور است که 9/1 درصد از سطح بارور و 16/3 درصد از تولید میوه کشور در سال 1395 را به‌خود اختصاص داده است (بی‌نام، 1395). ایران در تولید جهانی سیب دارای رتبه چهارم است و همه ساله حجم بالایی سیب در کشور تولید می‌شود که به‌منظور عرضه در خارج از فصل و حفظ ویژگی‌های خاص، در سردخانه نگهداری می‌شود و بخش قابل توجهی از ظرفیت سردخانه‌های بالای صفر به نگهداری آن اختصاص یافته است. حدود 90 درصد از حجم سردخانه‌های کشور برای نگهداری سیب‌های گلدن دلیشس و رد دلیشس مورد استفاده قرار می‌گیرد (بی‌نام، 1369). بیماری‌های بعد از برداشت سیب که عمدتا توسط قارچ‌ها ایجاد می‌شوند خسارت قابل توجهی را به کمیت و کیفیت این محصول وارد می‌کنند. برای کنترل بیماری‌های قارچی از قارچ‌کش‌هایی مانند ایمازالیل استفاده می‌شود (Nunes, *et al.*, 2001). این قارچ‌کش‌ها معمولا در طبیعت به کندی تجزیه می‌شوند و باقی‌مانده آن‌ها در طبیعت از یک سو باعث ایجاد مسمومیت برای انسان و سایر موجودات زنده شده سلامت مصرف کنندگان و محیط زیست را به‌مخاطره می‌اندازند از سوی دیگر، باعث ایجاد و گسترش جدایه‌های مقاوم بیمارگر به این قارچ‌کش‌ها می‌گردند (Karaman, *et al.*, 2001). لذا این امر دانشمندان را بر آن داشته تا به تولید مواد جدید ضدقارچی تجزیه‌شونده که توانایی سازگاری با محیط زیست را دارند و به آسانی قابل تهیه می‌باشند، روی آورند. گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان‌دهنده خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی اسانس‌ها است. ترکیب‌هایی همچون سینئول، کامفور، لینالول، آلفا پینن، بتا پینن، برنئول، کارون، لیمونن، کارواکرول، سیمن، کامفن،آلفا ترپینئول که در اسانس اندام‌های

- استادیار بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، AREEO، مشهد، ایران
(* - نویسنده مسئول: Email: s.einafshar@areeo.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i2.77650

مختلف گیاهی وجود دارند دارای خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی هستند (Soltani pour, 2002).

تا کنون پژوهش‌های فراوانی در مورد ارزیابی اثر ضدمیکروبی انواع اسانس، عصاره و ادویه‌ها صورت گرفته است. این پژوهش‌ها نشان می‌دهند این مواد، توانایی ممانعت از رشد دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد در مواد غذایی را دارند. از آنجا که این ترکیبات کاملا طبیعی هستند زیان آن‌ها برای سلامت انسان و محیط زیست بسیار کمتر از مواد نگه‌دارنده شیمیایی است (Arras and Vsaei, 2001).

مهمترین عامل آلوده‌کننده سیب در انبار کپک *پنی سیلیوم اکسپانسوم* است که حتی در صفر درجه سانتی‌گراد نیز در سردخانه رشد می‌کند، اگرچه رشد آن کند می‌شود (Snowdon, 1990). در حال حاضر به‌منظور کنترل آلودگی قارچی از مواد مختلفی مانند کلر، دی‌اکسیدگوگرد، بنزیمیدازول، بنومیل، 2- آمینو بوتان، ایمازالیل و دی‌کلران استفاده می‌شود (راحمی، 1373).Cano و همکاران (1987) اثر بنزیمیدازول و ایمازالیل در کنترل مهمترین بیماری‌های قارچی پس از برداشت دو رقم سیب در سردخانه را بررسی کردند و نشان دادند این دو قارچ‌کش ضمن کنترل قارچ‌ها بر اسیدیته و قند کل رقم‌های سیب نیز تاثیر معنی‌داری داشت. سیب با مخلوط سدیم‌اوفنیل‌فنات و آمونیم (0/5%) و مخلوط ایمازالیل و سدیم‌اوفنیل فنات، تیابندازول و گلوتارالدهید، فرمل و بنزالکونیوم‌کلراید ضدعفونی شد و اثر مواد ضدعفونی کننده در کنترل *پنیسیلیوم اکسپانسوم*[1] ارزیابی و نشان داده شد سدیم‌اوفنیل‌فنات دارای تاثیر بیشتری بود (Sus & Vinas, 1990).

روغن سیاهدانه دارای ترکیباتی مانند کارون، آلفاپینن، سابینن، بتاپینن و پی‌سیمن است که از آن میان آلفاپینن دارای اثر ضدعفونی کنندگی است (میرزا و همکاران، 1375). با استفاده از صفحات اشباع شده از دی‌اتیل‌اتر عصاره سیاهدانه استخراج شد و نشان داده شد این صفحات از رشد باکتری‌های گرم مثبت مانند *استافیلوکوکوس‌اورئوس* و گرم منفی مانند *سودوموناس ائروژینوزا و اشرشیاکلی*[2] و یک مخمر به نام *کاندیداآلبیکانس* ممانعت کرد (Hanafy &, Hatem 1991).

Akgol (1989) نشان داد دانه‌های سیاهدانه حاوی اسانس روغنی هستند که در شرایط آزمایشگاهی از رشد ده قارچ ممانعت کرد و تاثیر ممانعت‌کنندگی اسانس بر باکتری‌ها بیشتر از قارچ‌ها بود. Shayeb و Mabrouk (1984) غلظت‌های مختلف سیاهدانه در محیط کشت ذرت و برنج (RC) را به‌کار برد و نشان داد سیاهدانه تا حدود 90- 85% از تولید آفلاتوکسین ممانعت نمود. درحالی‌که نمونه شاهد تنها 10% اثر ممانعت‌کنندگی داشت. Rathee و همکاران (1987) در شرایط آزمایشگاهی فعالیت ضدمیکروبی روغن‌ها و مواد غیرقابل‌صابونی سیاهدانه را بررسی کردند و فعالیت‌های ضدقارچی و ضدمیکروبی آن‌ها را به وضوح نشان دادند.

اثرضدمیکروبی روغن پرس سرد سیاهدانه علیه گونه‌های میکروبی متفاوت از قبیل *اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژنس*[3]، *استافیلوکوکوس اورئوس*[4]، *باسیلوس سوبتلیس*[5]، *آسپرژیلوس نایجر*[6]، *آسپرژیلوس فلاووس*[7]، *کاندیدا آلبیکانس*[8] و *ساکارومایسس سرویه*[9] بررسی و مشخص شد روغن سیاهدانه علیه همه این میکروارگانیسم‌ها به‌جز *آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس فلاووس* اثر بازدارندگی داشت (Ramadan *et al*., 2012).

روغن سیاهدانه اثر سوء نیتریت را کاهش می‌دهد و اثر بازدارندگی بر سرطان کبد ناشی از نیتروز دارد. لازم به‌ذکر است روغن سیاهدانه از سوی سازمان غذا و داروی آمریکا به‌عنوان GRAS[10] طبقه‌بندی شده است (Kaskoos *et al*., 2011). خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی سیاهدانه در مطالعات متعدد گزارش شده و در برخی تحقیقات در موادغذایی مختلف استفاده شده است، اما تا کنون اثرات ضدمیکروبی روغن سیاهدانه با رویکرد جایگزینی قارچ‌کش‌های شیمیایی در محصولات انباری مورد توجه قرار نگرفته است. به‌علاوه به‌واسطه گزارشاتی مبنی بر کاهش اثر سوء مواد شیمیایی با سیاهدانه و همچنین اثرات سلامت بخش آن، به‌نظر می‌رسد استفاده از روغن سیاهدانه در افزایش عمر انباری محصولات کشاورزی حائز اهمیت است. لذا در این پژوهش امکان جایگزینی روغن سیاهدانه و عصاره آن با انواع شیمیایی مانند ایمازالیل در افزایش عمر انباری دو رقم سیب بررسی شد.

مواد و روش‌ها

دانه‌های سیاهدانه (*Nigella Sativa*) تایید شده از مرکز تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی تهیه شد. مواد اضافی آن جدا شده دانه‌ها شستشو و در دمای اتاق تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. دانه‌های سیاهدانه به‌وسیله آسیاب معمولی آزمایشگاهی (هیتاچی، 1231) به پودر تبدیل و سپس با استفاده از دستگاه سوکسله روغن آن استخراج گردید (Gharbi *et al*., 2015).

1 *Penicillium Expansum*
2 *Eshershia coli*
3 *Psudomonas Aerogenes*
4 *Estaphylococcus Aureos*
5 *Basilus Subtilis*
6 *Asperjilus Niger*
7 *Asperjilus Flavoos*
8 *Candida Albikanc*
9 *Saccaromyses Cerevisieh*
10 Generally Regarded As Safe

برای استخراج عصاره، پودر آسیا شده سیاهدانه به نسبت 1 به 20 با اتانول 80 درصد مخلوط شد و طی یک شبانه روز در دمای اتاق مخلوط و صاف شد. بر روی صافی مجددا به همان نسبت اتانول تازه افزوده گردید و فرایند فوق تکرار شد حلال توسط آون تحت خلا (در دمای 50 درجه سانتی‌گراد) خشک شد (Isik *et al*., 2017) .

عصاره اتانولی و روغن سیاهدانه در دو غلظت0/1 و 0/2 درصد (ابوالحسن‌زاده و همکاران، 1396) بر روی دو رقم سیب (رد و گلدن دلیشس) محلول پاشی شد.

شاهد مثبت سیب‌هایی بودند که قارچ‌کش ایمازالیل (P.P.M 2000) بر روی آن محلول‌پاشی شد و شاهد منفی، هیچ نوع محلول‌پاشی بر روی سیب‌ها انجام نشد.

سیب‌های محلول‌پاشی شده به‌همراه نمونه‌های شاهد در سرد خانه صفر درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی90 درصد به مدت 6 ماه نگهداری شدند و در زمان صفر و هر ماه به مدت 6 ماه آزمون‌های زیر انجام شد:

شمارش کلی میکروبی: در محیط کشت PCA[1] (Oranusi and Wasley, 2012).

شمارش کپک و مخمر: در محیط کشت SDA[2] (Oranusi and Wasley, 2012).

سختی بافت

با استفاده از پنترومتر دستی، تکه‌هایی از پوست دو سمت متقابل میوه با تیغه مخصوصی برداشته و استوانه فلزی دستگاه را در بخش بدون پوست فرو برده و میزان سفتی بر اساس کیلوگرم بر سانتی مترمربع یادداشت گردید.

درصد مواد جامد محلول

با استفاده از رفرکتومتر رومیزی مدل Shouchit tangliang اندازه‌گیری شد.

رطوبت

رطوبت مقدار معین آلبالو با استفاده از آون‌الکتریکی (Gerhardt) در دمای 105 درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به عدد ثابت اندازه‌گیری شد.

اسیدیته

به‌منظور اندازه‌گیری اسیدیته مقدار معینی از نمونه توزین شده، تا حد امکان پالپ گردید و تا 100 میلی‌لیتر رقیق شد 5 میلی‌لیتر از آن مجددا با آب تا 100 میلی‌لیتر رقیق شد و با سود 0/1 نرمال در حضور فنل فتالئین تا رسیدن به pH 8/2 تیتر شد اسیدیته بر حسب اسید مالیک و با استفاده از معادله ی زیر محاسبه شد.

$$\text{اسیدیته} = (V \times 0/0067 \times 100)/12/312 \qquad (1)$$

V= حجم اسید مصرفی

پذیرش کلی مصرف کننده: بر اساس روش تست پنج نقطه‌ای (هدونیک)

درصد کاهش وزن

برای اندازه‌گیری میزان کاهش وزن از یک ترازوی آزمایشگاهی (A&D 500A، ژاپن) بـا دقـت 0/01 گـرم، استفاده شد. هر واحد آزمایشی پس از تیمار و قبل از انتقال به سردخانه توزین و در پایان هر ماه نگهداری در سردخانه مجدداً وزن شد. با محاسبهٔ تفاوت وزن اولیه و ثانویه، درصد کاهش وزن محاسبه و گزارش شد.

درصد ویتامین ث

به روش تیتراسیون با 2 و 6، دی‌کلروفنل‌ایندوفنل تا ظهور رنگ صورتی انجام شد. نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک در 100 گرم نمونه (mg/100gr) گزارش شد (Wu *et al*., 2012).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های حاصل از آزمایش‌های مختلف با استفاده از آزمایش فاکتوریل با پایه طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل آماری شدند. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار آماری MSTATC استفاده شد و میانگین‌های حاصل با استفاده از آزمون دانکن در سطح 5 درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثر رقم سیب بر خصوصیات کمی، کیفی و میکروبی ارقام سیب انبار شده در سردخانه

جدول 1 مقایسات میانگین خصوصیات کمی و کیفی دو رقم سیب را نشان می‌دهد. این جدول نشان می‌دهد سیب رقم گلدن در مقایسه با رقم رد ویژگی‌های میکروبی بهتری داشت و به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) شمارش کلی میکروبی و شمارش کپک و مخمر پایین‌تری از خود نشان داد (شمارش کلی $8/16\times10^4$ عدد رقم گلدن در مقابل $9/05\times10^4$ عدد رقم رد و کپک و مخمر $2/3\times10^2$

1 Plate Count Agar
2 Saboroad Dextrose Agar

عدد رقم گلدن در مقابل $3/02\times10^2$ عدد رقم رد). از سوی دیگر به‌طور معنی‌داری بافت رقم گلدن در مقایسه با رقم رد سخت‌تر بود و بریکس، ضایعات و ویتامین‌ث آن نیز بیشتر بود. رقم رد از نظر پذیرش کلی مصرف‌کنندگان نیز اعداد بالاتری را به‌خود اختصاص داد. این دو رقم تفاوت معنی‌دار ی از نظر اسیدیته و رطوبت با یکدیگر نداشتند. گنجی مقدم و نیکخواه (1384) گزارش کردند صفات حسی رقم رد دلیشس نسبت به رقم گلدن دلیشس برتری داشت همچنین بافت این رقم نیز سخت‌تر اما بریکس آن کمتر بود. همچنین یافته‌های یاوری و همکاران (1393) با تایید یافته‌های این پژوهش مقدار مواد جامد محلول رقم گلدن را بیش از رقم رددلیشس و مقدار اسیدیته را یکسان گزارش نمودند. همچنین Cano و همکاران (1987) اعداد مشابهی را برای اسیدیته و اعداد مختلفی را برای مقدار ویتامین ث موجود در ارقام سیب گزارش نمودند.

جدول - مقایسات میانگین اثر رقم بر خصوصیات کمی و کیفی سیب

نوع رقم	شمارش کلی $\times10^4$(عدد)	کپک و مخمر $\times10^2$ (عدد)	بافت(N)	Bx	آزمون حسی	ضایعات (درصد)	رطوبت (درصد)	ویتامین ث (mg/100g)	اسیدیته (درصد)
گلدن دلیشس	8/157 b	2/306 b	6/267b	17/509a	3/426b	10/01a	80/067a	2/025a	0/074a
رد دلیشس	9/046 a	3/019a	7/162a	16/055b	3/722a	3/632b	79/48a	1/549b	0/086a

حروف بالانویس مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) هستند

اثر نوع ماده ضدمیکروب بر خصوصیات کمی، کیفی و میکروبی ارقام سیب انبار شده در سردخانه

مقایسات میانگین اثر انواع مواد ضدمیکروب به‌کار رفته در این تحقیق در جدول 2 خلاصه شده است. جدول 2 نشان می‌دهد کمترین مقدار شمارش کلی میکروبی در نمونه ایمازالیل مشاهده شد و شمارش کلی میکروبی نمونه‌های حاوی عصاره و روغن سیاهدانه در هر دو درصد اختلاف معنی‌داری با ایمازالیل داشتند. عصاره و روغن سیاهدانه در کنترل آلودگی محصولات مختلف موثر می‌باشند (Rabie, and Marzouk, 2010 ; Khaleghi, *et al*., 2016 Alnaemi and Alsawaf, 2010;). اثرات ضدباکتریایی روغن سیاهدانه به دلیل حضور تیموکینون (یکی از ترکیبات عمده در روغن سیاهدانه) است. مکانیسم اثر تیموکینون، بازدارندگی آن از سنتز RNA و پروتئین در باکتری است. همچنین آلفا- پینن موجود در روغن سیاهدانه نیز دارای فعالیت ضدباکتریایی می‌باشد (Kahsai, et al., 2001). ارقام سیب محلول‌پاشی شده با روغن سیاهدانه در غلظت 0/2 درصد و عصاره سیاهدانه در دو غلظت به‌کار رفته در مقایسه با شاهد اثرات ممانعت‌کنندگی معنی‌داری را در شمارش کلی میکروبی از خود نشان دادند اما در مقایسه با قارچ‌کش شیمیایی این اثر کمتر بود که احتمالا به دلیل غلظت کم ماده به‌کار رفته در این پروژه باشد. اثر روغن سیاهدانه بر کاهش بار میکروبی، بوسیله ابوالحسن‌زاده و همکاران (1396) گزارش شده است. این محققین حداقل تاثیر را در غلظت 2 درصد گزارش کردند لذا چنانچه درصدهای بالاتری از عصاره و روغن سیاهدانه بکار رود انتظار می‌رود اثار ضدباکتری روغن و عصاره سیاهدانه بیشتر مشهود باشد.

مقدار کپک و مخمر رشد کرده در سیب‌ها در مورد ایمازالیل ($1/944\times10^2$عدد) و عصاره 0/2 درصد ($1/917\times10^2$عدد)، کمترین مقدار و در نمونه‌های شاهد ($3/639\times10^2$ عدد) و عصاره 0/1 درصد ($3/306\times10^2$ عدد) بیشترین مقدار بود. عصاره سیاهدانه در غلظت 0/2 درصد به اندازه یک ماده شیمیایی بر رشد قارچ‌ها اثر ممانعت‌کنندگی داشت. اثرات ضدقارچی روغن سیاهدانه علیه *آسپرژیلوس فومیگاتوس* و *آسپرژیلوس فلاووس* قبلا گزارش شده است (مینوئیان حقیقی و خسروی، 1390).

میزان ضایعات نمونه‌های سیب در مورد روغن سیاهدانه در غلظت 0/1 درصد (8/428%) به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. نوع ماده ضدمیکروب تاثیر معنی‌داری بر بافت، رطوبت و اسیدیته نمونه‌های سیب نداشت. پوشش‌های مختلف بر بافت سیب تاثیر می‌گذارند، پوشش سیب موجب حفظ سفتی بافت سیب می‌گردد (Ju and Curry, 2000 و Hall *et al*., 1953). گنجی مقدم و نیکخواه (1384) نیز نشان دادند کاربرد روغن‌های گیاهی موجب حفظ بافت شده، نمونه‌های پوشش داده شده با 2 درصد روغن سیاهدانه در هر دو رقم رد و گلدن دلیشس موجب سفتی بافت سیب شدند.

مقدار مواد جامد محلول در اثر محلول پاشی با روغن و عصاره سیاهدانه ثابت بود تنها نمونه شاهد با 16/93 درصد و نمونه‌های حاوی 0/1 درصد روغن سیاهدانه با 16/53درصد بدون داشتن اختلاف معنی‌دار به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار مواد جامد محلول را دارا بودند. گنجی مقدم و نیکخواه (1384) هم نشان دادند درصد مواد جامد محلول در سیب‌های حاوی روغن‌های گیاهی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.

مقدار ویتامین‌ث به‌طور معنی‌داری در نمونه‌های حاوی 0/1 درصد روغن سیاهدانه با 2/13 mg/100gr بیشترین مقدار و در نمونه شاهد با 1/663 mg/100gr کمترین مقدار بود.

Zhang و همکاران (2009) تاثیر انبارداری بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و کیفی نمونه‌هایی که توسط مواد ضدمیکروب طبیعی نگهداری شدند را بررسی نمود و نشان داد طی یک ماه انبارداری مقدار ویتامین‌ث، مواد جامد کل، سختی بافت و پوشش‌های مختلف بر روی پوست میوه بر پذیرش کلی مصرف‌کنندگان موثر است. نتایج نشان دادند اسیدیته، درصد افت و ضایعات نمونه‌های سیب افزایش یافت. پذیرش کلی مصرف‌کننده، در تمام نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری نداشتند. Scott و همکاران (1995) ایجاد حالت روغنی حاصل از روغن خردل و روغن پالم روی پوست میوه سبب را گزارش کردند و نشان دادند امولسیون‌های لیپیدهای خنثی، فسفولیپیدها یا روغن‌های گیاهی تصفیه شده و تصفیه نشده حالت روغنی روی پوست میوه و بوی نامطبوع ایجاد نمی‌کنند. Ju و Curry (a2000) همچنین گزارش نمودند میوه سیب رقم گرانی اسمیت محلول‌پاشی شده با روغن ذرت با انواع بدون محلول‌پاشی شده از نظر نرمی بافت، اسید قابل تیتر و مواد جامد محلول با انواعی که تازه برداشت شده بودند قابل مقایسه بود. Ju و Curry (b2000) نشان دادند تیمار با روغن‌های گیاهی، رنگ میوه، سفتی بافت، مواد جامد انحلال‌پذیر و اسید قابل تیتراسیون میوه سیب رقم‌های رد و گلدن دلیشس را حفظ می‌کند و طعم نامطلوب در میوه‌های تیمار شده با روغن‌های گیاهی به‌وجود نمی‌آید.

جدول2- مقایسات میانگین اثر مواد ضدمیکروب بر خصوصیات کمی و کیفی سیب

ماده ضدمیکروب	شمارش کلی (10^4×)(عدد)	کپک و مخمر (10^2×) (عدد)	بافت(N)	Bx	آزمون حسی	ضایعات (درصد)	رطوبت (درصد)	ویتامین ث (mg/100g)	اسیدیته (درصد)
روغن سیاهدانه 0/1%	15/83^{a}	2/806^{a}	6/625^{a}	16/53^{a}	3/889^{a}	8/428^{a}	80/98^{a}	1/711^{ab}	0/083^{a}
روغن سیاهدانه 0/2%	7/972^{c}	2/361^{a}	6/647^{a}	16/89^{a}	3/722^{a}	6/614^{b}	78/05^{a}	1/862^{ab}	0/074^{a}
عصاره 0/1%	5/917^{d}	3/306^{a}	6/708^{a}	16/83^{a}	3/333^{a}	6/683^{b}	80/14^{a}	2/13^{a}	0/083^{a}
عصاره 0/2%	5/194^{d}	1/917^{b}	6/889^{a}	16/79^{a}	3/306^{a}	6/314^{b}	80/77^{a}	1/667^{b}	0/073^{a}
شاهد	12/75^{b}	3/639^{a}	6/681^{a}	16/93^{a}	3/528^{a}	7/067a^{b}	80/56^{a}	1/663^{b}	0/061^{a}
ایمازالیل	3/944^{e}	1/944^{b}	6/736^{a}	16/73^{a}	3/667^{a}	5/828^{ba}	78/14^{a}	1/691^{b}	0/105^{a}

حروف بالانویس مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) هستند

اثر انبارداری بر خصوصیات کمی، کیفی و میکروبی ارقام سیب انبار شده در سردخانه

جدول 3 مقایسات میانگین اثر 6 ماه انبارداری را بر خصوصیات کمی و کیفی ارقام سیب نشان می‌دهد. جدول 3 نشان می‌دهد شمارش کلی میکروبی و کپک و مخمر طی 6 ماه نگهداری در سردخانه افزایش یافتند. سیب‌های انبار شده تا 1 ماه کمترین مقدار آلودگی را نشان دادند. سختی بافت نمونه‌های سیب طی شش ماه نگهداری در حدود 1/3 نیوتن و مقدار بریکس در حدود 1/1 درصد کاهش یافت (از 17/26% در ماه اول به 16/1% در ماه ششم). پذیرش کلی مصرف کنندگان روندی نزولی داشت به‌طوریکه پذیرش کلی مصرف‌کنندگان نمونه‌های ماه اول (4/287) تا ماه ششم (2/722) در حدود 1/5 واحد کاهش یافت. کاهش میزان پذیرش کلی با افزایش زمان انبارمانی احتمالا به دلیل افزایش تخلخل و آردی شدن، کاهش احساس دهانی و نیز کاهش طعم مناسب باشد به‌طوری که در سیب قرمز لبنانی نیز مقدار پذیرش کلی در ماه اول کم شد (Mehina Gic *et al.*, 2004). جعفریان و همکاران (1391) نشان دادند بین شاخص بریکس میوه سیب و مدت انبارمانی همبستگی مثبت وجود دارد. کاشانی‌نژاد و همکاران (1377) نیز به این نتیجه رسیدند که با افزایش زمان نگهداری شاخص بریکس در نمونه‌های سیب افزایش یافت. اما با توجه به تاثیرات منفی عصاره و روغن سیاهدانه بر شاخص‌های رسیدگی احتمالا دلیل ثابت بودن بریکس اثر حفاظتی مواد پوششی بر رسیدگی سیب است. مقدار ضایعات نمونه‌های سیب نیز در طی 6 ماه نگهداری افزایش یافت. تفاوت بین مقدار ضایعات در ماه اول تا چهارم معنی‌دار نبود. اما از ماه پنجم مقدار ضایعات نمونه های سیب در مقایسه با ماه‌های اول و دوم معنی‌دار شد و از 5/589 درصد در ماه اول به7/62 درصد در ماه پنجم و سپس به 8/422 درصد در ماه ششم افزایش یافت. مقدار رطوبت نمونه‌های سیب در طی 6 ماه نگهداری مرتبا کاهش یافت و از 81/53 درصد ماه اول به 75/54 درصد در ماه ششم رسید. میزان ویتامین‌ث نمونه‌های سیب طی شش ماه نگهداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت به‌طوری‌که از 4/82 در ماه اول به 0/387 mg/100gدر ماه ششم رسید. کاهش ویتامین ث در ماه اول تا سوم معنی‌دار بود در ماه چهارم تاششم این کاهش معنی‌دار نبود. مقدار اسیدیته نمونه‌های سیب نیز کاهش یافت و از 0/098 به 0/051 درصد رسید.

جدول 3- مقایسات میانگین اثر 6 ماه انبارداری بر خصوصیات کمی و کیفی سیب

انبارداری (ماه)	شمارش کلی $\times10^4$(عدد)	کپک و مخمر× 10^2 (عدد)	بافت (N)	Bx	آزمون حسی	ضایعات (درصد)	رطوبت (درصد)	ویتامین ث mg/100g	اسیدیته (درصد)
1	2/111 ^{f}	0/111^{e}	7/306^{a}	17/26^{a}	4/278^{a}	5/589^{c}	81/53^{a}	4/82^{a}	0/098^{a}
2	4/583 ^{e}	0/694^{e}	7/236^{a}	17/32^{a}	0/083^{a}	5/842^{c}	80/44^{a}	2/815^{b}	0/118^{a}
3	7/639^{cd}	1/75^{d}	6/833^{a}	17/05^{a}	3/806^{a}	6/32^{bc}	80/92^{a}	1/337^{c}	0/081^{a}
4	9/889^{c}	3/056^{c}	6/567^{ab}	16/63^{ab}	3/417^{a}	7/083^{abc}	80/36^{a}	0/786^{cd}	0/071^{a}
5	12/06^{b}	4/11^{b}	6/317^{ab}	16/33^{b}	3/139^{a}	7/672^{ab}	79/85^{a}	0/587^{cd}	0/059^{a}
6	15/33^{a}	6/25^{a}	6/028^{b}	16/1^{b}	2/722^{a}	8/422^{a}	75/54^{a}	0/378^{d}	0/051^{a}

حروف بالانویس مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی دار ($P<0/05$) هستند

اثر متقابل رقم و ماده ضدمیکروب بر خصوصیات کمی، کیفی و میکروبی ارقام سیب انبار شده در سردخانه

جدول 4 مقایسات میانگین اثر رقم و ماده ضدمیکروب را بر خصوصیات کمی و کیفی ارقام سیب نشان می‌دهد. همانطور که از داده‌های این جدول نمایان است اثر متقابل رقم و ماده ضدمیکروب بر خصوصیات کمی و کیفی ارقام سیب معنی‌دار است. نتایج نشان داد که ایمازالیل و عصاره 0/2 درصد سیاهدانه موثرترین ماده ضدمیکروب در رقم گلدن دلیشس (به‌ترتیب $2/5\times10^4$ و$4/22\times10^4$) بودند. شمارش کلی سیب‌های رقم گلدن دلیشس حاوی 0/1 درصد روغن سیاهدانه سیاهدانه با $19/83\times10^4$بالاترین میزان را نشان داد ولی درصدهای بالاتر از روغن سیاهدانه و عصاره سیاهدانه و نیز شاهد رقم گلدن دلیشس در مقایسه با رقم رد دلیشس اعداد کمتری را نشان دادند. به‌طورکلی می‌توان گفت رقم گلدن دلیشس نسبت به ماده ضدمیکروب عکس العمل بهتری را در مقایسه با رقم رد نشان داد. میزان رشد کپک‌ها و مخمرها در رقم رد دلیشس نمونه شاهد بیشترین و در رقم گلدن دلیشس نمونه حاوی ایمازالیل کمترین مقدار بودند. سیب‌های رقم گلدن نمونه‌های شاهد و محلول‌پاشی شده با 0/2 روغن و عصاره سیاهدانه و رقم رد دلیشس حاوی 0/1 و 0/2 روغن سیاهدانه و 0/2 عصاره سیاهدانه نیز بدون داشتن اختلاف معنی‌داربا یکدیگر مقدار رشد کپک و مخمر قابل قبولی داشتند. به‌طور کلی می‌توان گفت که رقم رد حاوی عصاره‌ها و روغن سیاهدانه مقاومت بیشتری را در مقایسه با رقم گلدن از نظر میزان رشد کپک‌ها و مخمرها از خود نشان داد. نتایج این تحقیق وجود فعالیت ضدمیکربی روغن و عصاره سیاهدانه را که توسط میرزا و همکاران (1375) گزارش شده بود تایید نمود و نیز این داده‌ها با نتایج

Sholdberg و Gaunce (1995) که دو قارچ‌کش را برای جلوگیری از فعالیت قارچ‌ها معرفی کردند و نیز نتایج Hanafy و Hatem (1991) که نشان دادند عصاره سیاهدانه از رشد مخمر کاندیدا ممانعت می‌کند و نیز Rathee (1987) که نشان دادند در شرایط آزمایشگاهی روغن سیاهدانه دارای خاصیت ضدقارچی است هماهنگ بود. اما با نتایج Akgul (1989) که نشان داد اثر ضدمیکربی روغن سیاهدانه بر روی باکتری‌ها از قارچ‌ها موثرتر بود مطابقت نداشت زیرا در این تحقیق اثر روغن سیاهدانه و عصاره بر شمارش کلی میکروبی از نمونه‌های شاهد کمتر بود.

تاثیر کم برخی از مواد به‌کار رفته در این تحقیق احتمالا به دلیل عدم غلظت‌های بالاتری از روغن یا عصاره سیاهدانه باشد زیرا Burt (2004) نشان داد باید غلظت‌های بالاتری از روغن سیاهدانه را برای رسیدن به همان اثر محیط کشت در ماده غذایی به‌کار برد.

سختی بافت سیب رقم رد دلیشس حاوی 0/2 درصد عصاره با N 7/67، بدون داشتن اختلاف معنی دار ($P<0/05$)، بیشترین مقدار بود. کلیه تیمارهای سیب رقم رد دلیشس بدون داشتن اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) بالاتر از رقم گلدن دلیشس بودند.

مقدار بریکس کلیه نمونه‌های حاوی مواد ضدمیکروب و شاهد رقم گلدن بیشتر از رقم رد بود. مقدار بریکس نمونه حاوی 0/1 درصد عصاره سیاهدانه در رقم گلدن (بریکس17/66) بالاترین مقدار بریکس و نمونه حاوی 0/1 درصد روغن سیاهدانه رقم رد (بریکس 15/59) کمترین بریکس را نشان داد.

مصرف‌کنندگان بالاترین میزان پذیرش را به سیب رقم رد دلیشس حاوی 0/1 درصد روغن سیاهدانه سیاهدانه و کمترین میزان را به سیب رقم گلدن حاوی 0/1 درصد عصاره سیاهدانه دادند. نمونه‌های شاهد رقم گلدن و ایمازالیل رقم رد نیز اعداد بالاتری را در مقایسه با نمونه‌های شاهد رقم رد و ایمازالیل رقم گلدن به‌خود اختصاص دادند.

بالاترین میزان درصد ضایعات مربوط به سیب‌های رقم گلدن حاوی 0/1 درصد روغن سیاهدانه سیاهدانه بود و کمترین میزان ضایعات مربوط به سیب‌های رقم رد حاوی 0/2 درصد عصاره.

مقدار رطوبت نمونه های سیب رقم گلدن حاوی انواع روغن و عصاره سیاهدانه (به‌جز در مورد سیب رقم رد حاوی ایمازالیل) بیشتر از کلیه سیب‌های رقم رد بود.

مقدار ویتامین‌ث در نمونه‌های سیب رقم گلدن بیشتر از رقم رد بود کمترین میزان ویتامین ث مربوط به نمونه شاهد رقم رد (1/303 mg/100g) و بیشترین آن مربوط به سیب رقم گلدن حاوی 0/2 درصد عصاره بود.

اسیدیته سیب‌های رقم گلدن کمتر از رقم رد حاوی روغن سیاهدانه بود ولی این موضوع در مورد سیب‌های حاوی عصاره سیاهدانه برعکس بود. شاهد رقم گلدن مقدار اسیدیته کمتر ولی سیب‌های رقم رد حاوی ایمازالیل دارای بیشترین مقدار ویتامین‌ث بود.

جدول-4 مقایسات میانگین اثر متقابل مواد ضدمیکروب و رقم بر خصوصیات کمی و کیفی سیب

رقم و مواد ضدمیکروب	شمارش کلی 10^4×	کپک و مخمر 10^2×	بافت (N)	Bx	آزمون حسی	ضایعات (درصد)	رطوبت (درصد)	ویتامین ث (mg/100g)	اسیدیته (درصد)
گلدن دلیشس و روغن سیاهدانه 0/1%	19/83 a	3/61 b	6/25ab	17/48 a	3/83a	12/77a	81/07a	1/91 a	0/08a
گلدن دلیشس و روغن سیاهدانه 0/2%	16/89b	2/17 c	6/21ab	17/46 a	3/56a	9/62 b	79/5 a	2 a	0/08a
گلدن دلیشس و عصاره0/1%	4/78 b	3/61 b	6/14ab	17/66 a	3/06a	9/9 b	79/08a	2/44 a	0/07a
گلدن دلیشس و عصاره0/2%	3/22 fg	1/61 c	6/08 b	17/41a	2/94a	9/63 b	80/11a	1/87 a	0/06a
گلدن دلیشس شاهد	10/72d	1/94 c	6/44ab	17/65 a	3/61a	9/57 b	79/54a	2/02 a	0/06a
گلدن دلیشس و ایمازالیل	2/5 g	0/89 d	6/47ab	17/4 a	3/56a	8/58 b	81/1 a	1/91 a	0/08a
رد دلیشس و روغن سیاهدانه0/1%	11/83d	2 c	7 a	15/59 b	3/94a	4/08 c	80/89a	1/51 a	0/08a
رد دلیشس و روغن سیاهدانه0/2%	9/06c	2/56 c	7/08 a	16/31ab	3/89a	3/61 c	76/61a	1/72 a	0/07a
رد دلیشس و عصاره0/1%	7/06 e	3 b	7/28 a	16/01b	3/61a	3/47 c	81/2 a	1/82 a	0/09a
رد دلیشس و عصاره0/2%	6/15 f	2/22 c	7/69a	16/17b	3/67a	3 c	81/44a	1/46 a	0/08a
رد دلیشس شاهد	14/78c	5/33 a	6/92 a	16/21b	3/44a	4/57 c	81/58a	1/30 a	0/06a
رد دلیشس و ایمازالیل	5/39f	3 b	7 a	16/05b	3/78a	3/08 c	75/18a	1/47 a	0/13a

حروف بالانویس مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) هستند.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان دادند سیب رقم گلدن در مقایسه با رقم رد دلیشس ویژگی‌های میکروبی بهتری، بریکس، رطوبت و ویتامین ث بیشتری داشت اما بافت رقم رد سخت‌تر، ضایعات کمتر و پذیرش کلی بالاتری داشت. در این تحقیق اثرات مواد ضدمیکروب بر روی بافت و اسیدیته ارقام سیب معنی‌دار نبود ولی بر روی ویتامین‌ث معنی‌دار بود. در انبارداری به مدت شش ماه، تمام نمونه‌ها با افت کیفی همراه بودند. به‌طوری‌که ویژگی‌های میکروبی افزایشی را در شمارش کلی میکروب‌ها، کپک و مخمر و در نتیجه ضایعات نشان داد و سایر پارامترهای کیفی کاهش معنی‌داری را نشان دادند. اثر مواد ضدمیکرب به‌کار رفته در این طرح بر روی کپک و مخمر بیشتر از شمارش کلی میکربی بوده است. زیرا در مقایسه با شاهد، نمونه های حاوی مواد ضد میکرب خصوصا روغن سیاهدانه و عصاره سیاهدانه میزان کپک و مخمر بسیار کمتری را در طی شش ماه نگهداری نشان دادند. لذا می توان از عصاره و روغن سیاهدانه سیاهدانه به عنوان موادی جایگزین ایمازالیل یا مواد مشابه استفاده نمود و فساد میکروبی سیب را به تاخیر انداخت به گونه ای که پارامترهای کیفی سیب نیز تا حد امکان حفظ گردد.

منابع

ابوالحسن‌زاده، ا.، خانی، م.، فهیم دانش، م.، 1396، بررسی اثرات ضد میکروبی روغن سیاهدانه در سوسیس با نیتریت کاهش یافته. مجله میکروب‌شناسی مواد غذایی، سال سوم شماره 3، 1-18.

بی‌نام، 1369، آیین کار نگهداری سیب در سردخانه، استاندارد 946، تجدید نظراول چاپ چهارم، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

بی‌نام، 1395، آمارنامه کشاورزی سال زراعی95 - 1394. وزارت جهاد کشاورزی. معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی دفتر آمار و فن‌آوری اطلاعات نشریه، سال 1395 چاپ دوم.

جعفریان. م.، صدرنیا، ح.، آق خانی، م.ح.، 1391، بررسی اثر مواد پوششی بر خواص حسی و شاخص بریکس سیب طی انبارمانی جهت کاهش ضایعات. هفتمین کنگره ملی مهندسی ماشینهای کشاورزی و مکانیزاسیون، شیراز شهریور 1391.

راحمی، م.،1373، فیزیولوژی پس از برداشت میوه‌ها و سبزی‌ها، انتشارات دانشگاه شیراز.

کاشانی‌نـــژاد، م.، 1377، بررســـی اثر تحت فشـــار کلرورکلســـیم بر حفظ خصوصیـــات کیفـــی و ارگانوپتیکـــی ارقام مهم ســـیب در ســـردخانه، پایـــان نامه کارشناشـــی ارشـــد صنایع غذایی و فرآورده‌های کشـــاورزی. دانشـــگاه فردوســـی مشهد.176 صفحه

گنجی مقدم، ا.، نیکخ.اه، ش.، 1384، بررسی اثر کاربرد روغن‌های گیاهی بر خواص کمی و کیفی و افزایش عمر انبارمانی میوۀ سیب ارقام گلدن و رد دلیشس. مجله تحقیقات مهندسی کشاورزی. جلد 6 (23)، 85-90.

میرزا، مهدی. سفیدکن، ف. احمدی، ل، 1375،روغن سیاهدانه‌های طبیعی استخراج شناسایی کمی و کیفی، کاربرد. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.

یاوری، ب.، چاپارزاده، ن.، نژاوند، س.، قدرتی، م.، محمدپور، ع.، 1393، تاثیر مدت زمان انبارداری سردخانه‌ای روی برخی خواص فیزیولوژیکی دو رقم سیب. فرایند و کارکرد گیاهی، جلد 3، شماره 7، 122- 115.

Akgul, A., 1989, Antimicrobial activity of black cumin (Nigella Sativa) essential oil, Gazi. Univ. Eczacilik. Fak. *Derg*. 6(1), 63-68.

Arras G. and Vsai M., 2001, Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens: chemical analysis of thymus capitates oil and its effect in subatomospheric pressure condition. *Journal of Food Protection*, 64:1025-1029.

Cano, M. P., J. L. De laPlaza and L. Munaz- Delgado, 1987, Effect of several post- harvest fungicide treatments on carbohydrate evaluation of cold stored apples. *Food Chemistry*, 25(2), 135-144.

Gharby, S., Harhar , H., Guillaume, D., Roudani, A., Boulbaroud, S., Ibrahimi, M., Ahmad, M., Sultana, S., Ben Hadda, T., Chafchaouni-Moussaoui, I., Charrouf, I. , 2015, Chemical investigation of Nigella sativa L. seed oil produced in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 14, 172–177.

Hanafy, M.S.M., Hatem, M.E., 1991, Studies on the antimicrobial activity of Nigella Sativa seed (black cumin). *Elsevier scientific*, 34(213), 273-278.

ISIK, S., Kartal, S., Erdem, A., 2017, Quantitative analysis of Thymoquinone seed and commercial seed oil s and seed oil capsules from Turkey, Journal of Faculty Pharmacology. *Ankara*, 41(1), 34-41.

Ju, Z. and Curry, E. A., 2000a, Stripped corn oil emulsion alters ripening, reduces superficial scald, and reduces core flush in 'Granny Smith' apples and decay in 'd'Anjou' pears *Postharvest Biology and Technology*, 20, 185 – 193.

Ju, Z. and Curry, E. A., 2000b, Stripped corn oil controls scald and maintains volatile production potential in "Golden Suprem" and "Delicious" apples. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, 2133-2137.

Kahsai, A.W., 2002, Isolation and characterization of active ingredients from Nigella sativa for antibacterial screening. MSc thesis. *East Tennessee State University*, USA

Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A.m., 2001, Antibacterial and antifungal activity of the essential oil of Thymus revolutus Celak from Thrkey. *Journal Ethnopharmacol*, 76, 183-186.

Kaskoos, R., 2011, Fatty acid composition of black cumin oil from Iraq. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5:85–89.

Mehinagic, E., Royer,G. , Symoneaux, R., Bertrand, D., Jourjon, F., 2004, Prediction of the sensory quality of apples by physicalmeasurements, *Postharvest Biology and Technology* 34, 257–269.

Nunes, C., Usall, J., Teixido, N. And Vinas, I., 2001, Biological control of postharvest pear diseases using bacterium, Pantoea agglomerans CPA-2. Int. *Science of food and Microbiology*, 70, 53-61.

Oranusi, U.S. and Wesley, B., 2012, Microbiological Safety Assessment of Apple Fruits (Malus domestica Borkh) Sold in Owerri Imo State NigeriaU.S. WesleyAdvance Journal of Food Science and Technology, 4(2), 97-102.

Ramadan, M., Asker, M., and Tadros, M., 2012, Antiradical and antimicrobial properties of cold- pressed black cumin and cumin oils. *European Food Research Technology*. 234, 833– 844.

Rathee, P.S., Mishara, Sh., Kaushal, R., 1987, Activity of essential oil, fixed oil and unsaponifible matter of Nigella Sativa L., *Indian Journal of Pharmacology Science*, 44, 8-10.

Scott, K. J., Yuen, C. M. C. and Kim, G. H., 1995, Reduction of superficial scald of apples with vegetable oils. *Postharvest Biology and Technology*, 6, 219- 223.

Shayeb, El. and Mabrouk, SS., 1984, Utilization of some edible and medicinal plants to inhibit aflatoxin formation. *Nutrition Report international*, 29(2), 273-282.

Sholdberg, P. L. and Gaunce, A. P., 1995, Fumigation of fruit with acetic acid to prevent postharvest decay, *Hortscien*ce, 30(6), 1271-1275.

Snowdon A.L., 1990, A color atlas of post harvest disease and disorder of fruit and vegetables. Vol (1) university of cambridge, 170-216.

Soltani Pour, M.A., 2002, The Comparison of collected essence combinations of Majdae (Zhameria)'s Leaf at different growth stages from different parts of hor mozgan and the evaluation of allelopathic potential and antimicrobial properties of extracted essence. MA Student's Thesis of Plant Science, Faculty of Science, Shiraz University (in Persian).

Sus, V., L. and Vinas, 1990, Effect of disinfection on the fungal contamination of apple cold room store, evaluation of disinfectants in the control of penicilium expansun. *Microbiologie Aliments- Nutrition*, 8(1), 95-102.

Wu, C.S., Gao, Q.H., G uo, X.D., Yu, J. and Wang, M., 2012, Effect of ripening stage on physicochemical properties and antioxidant profiles of promising table fruits "pear jujube" (Ziziphus jujube Mill.). *Scientia Horticulturae*, 148, 177 -184 .

Zhang, H., Wang, L., Ying Dong, L. M., Jiang, S, Xu, B., Zheng, X., 2009, Biocontrol of major postharvest pathogens on apple using Rhodotorula glutinis and its effects on postharvest quality parameters. *Biological Control*, 48, 79–83.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 507-516

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 516-507

Comparison of antifungal effects of nigella sativa oil and extract with imazalil on two apple cultivars in cold storage

S. Einafshar*

Received: 2018.12.19
Accepted: 2019.06.16

Introduction: Apple and its products play a major role in the Iranian agricultural economy. Apple fruit, after grapes, is the most important product of the country. Iran is ranked fourth in the global production of apple. After harvesting, to maintain the quality of apples, the cold stores are used. Molds like *penicillium expansum* causes significant damage to the quality and the quantity of apples and fungicides such as imazalil are used to control them. These fungicides usually decompose in nature slowly, and the residue of them, compromise the health of consumers and the environment. Scientists try developing new antifungal environment friendly materials. *Nigella Sativa* oil and extract contain compounds such as Caron, Alfa-pinene, Sopinen, Beta-pinene and P-cimen. Alpha-pinene is a disinfectant material. Antimicrobial and antioxidant properties of *Nigella Sativa* have been reported in several studies. In this study, the possibility of replacing chemical fungicides such as Imazalil with *Nigella Sativa* oil and extract for extending the storage life of two apple varieties was investigated.

Materials and methods: The preservative effects of *Nigella Sativa* oil and extracts as an antimicrobial agent was compared with Imazalil fungicide for two cultivars of apples, Red and Golden Delicious. *Nigella Sativa* oil and extract were extracted by solvent extraction and they were sprayed at two concentrations (0.1 and 0.2%) on Red and Golden Delicious apple cultivars. The sprayed apples and the controls (samples containing imazalil without any additives) were kept in a cold store at 0°C for 6 months. During 6 months, total microbial count, mold and yeast, tissue hardness, brix, acidity, sensory, percentage of waste, moisture and vitamin C were tested each month.

Results and discussion: The results showed that Golden delicious variety with 8.16×10^3 had better bacterial properties, Brix (17.5), Moisture (80.07%) and Vitamin C (2.02 mg/100g) than that of Red Delicious. However, the texture of the Red Delicious variety (3.01N) showed more hardness than Red Delicious, less waste (3.63%) and higher overall acceptance (3.72). The effects of anti-microbial agents on the texture and acidity of apple cultivars were not significant, but it was significant on vitamin C ($P<0.05$). During storage for six months, all samples experienced a decrease in quality. In addition, there were increases in the total count of microbes (from 2.11×103 at first month to 15.33×103 at sixth month, mold and yeast (from 111 at first month to 6.25×103 at sixth month, and a significant decrease in other qualitative parameters. The effect of anti-microbial agents used in this research on mold and yeast was higher than that of total microbial count. Anti-microbial agents, especially *Nigella Sativa* oil and extract, had much lower mold and yeast content during the six months, than the control. The qualitative characteristics of the apple were also maintained. Therefore, *Nigella sativa* oil and extract are introduced as alternative to Imazalil that can prevent the microbial decay of apple.

Keywords: Fungicidal, Golden delicious apple variety, Imazalil, Nigella sativa, Storage Red, delicious apple variety

* Assistant Professor, Department of Agricultural Engineering Institute, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, IRAN.
(* Corresponding author E-mail: s.einafshar@areeo.ac.ir)

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 517-527

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 527-517

بررسی خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم خوراکی بر پایه امولسیون نشاسته و اسید اولئیک و پوشش‌دهی میوه گوجه‌سبز

مسعود تقی‌زاده[1*] - اسما اقبال[2]

تاریخ دریافت: 1396/06/31
تاریخ پذیرش: 1397/08/15

چکیده

امروزه از فیلم‌های خوراکی متنوعی برای بسته‌بندی مواد غذایی استفاده می‌شود. استفاده از این مواد زیست تخریب‌پذیر روشی نوین برای جایگزینی مواد پلیمری و افزایش ماندگاری مواد غذایی است. هدف اصلی این پژوهش تولید فیلم خوراکی بر پایه نشاسته و اسید اولئیک و بررسی ویژگی‌های آن (ضخامت، حلالیت، نفوذپذیری به بخار آب و مقاومت کششی) است. پس از این بررسی‌ها یکی از تیمارهای مناسب انتخاب و در سه غلظت برای پوشش گوجه‌سبز استفاده و موارد افت وزن، pH، رنگ و سفتی نمونه‌ها در طول 4 هفته بررسی شد. با افزایش میزان اسید اولئیک در فیلم‌های تولید شده میزان ضخامت افزایش ولی مقاومت کششی، حلالیت و نفوذپذیری فیلم‌ها به‌صورت معنی‌داری کاهش پیدا کرده است. نمونه حاوی 10% اسید اولئیک به‌عنوان بهترین فیلم از لحاظ حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب برای پوشش‌دهی انتخاب شد. در پوشش تهیه شده برای میوه گوجه‌سبز، با افزایش میزان ماده جامد محلول، میزان افت وزن و افزایش pH در طول زمان با آهنگ کمتری اتفاق افتاده است و همچنین تغییرات رنگ نیز نسبت به نمونه شاهد در آنها کمتر می‌باشد. دو غلظت 10 و12% نیز نتایج مشابه را نشان می‌دادند.

واژه‌های کلیدی: نشاسته، اسید اولئیک، فیلم خوراکی، ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی

مقدمه

با توجه با مخاطرات محصولات پلیمری و افزایش آلودگی های محیط زیست در سال‌های اخیر، توجهات برای استفاده از فیلم خوراکی برای بسته‌بندی مواد غذایی بسیار افزایش یافته است. یکی از روش‌های نگهداری مواد غذایی استفاده از پوشش های خوراکی است چرا که فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی نقش مهمی در نگهداری، توزیع و بازاریابی محصولات غذایی دارند (Bourtoom *et al*., 2008). فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی لایه نازکی از مواد عموماً طبیعی و غیرطبیعی خوراکی می‌باشند که بر روی سطح خارجی مواد غذایی قرار گرفته و توسط مصرف‌کننده همراه با ماده غذایی مصرف می‌شود (Baldwin *et al*., 2001; Fakhouri *et al*., 2015). با قرار دادن مواد غذایی در محلول‌های پوششی، لایه نازکی از آن بر روی سطح ماده غذایی ایجاد می‌گردد که به آنها پوشش‌های خوراکی گفته می‌شود. تحقیقات در زمینه یک سیستم جایگزین برای نگهداری مواد غذایی در سال‌های اخیر گسترش بسیاری یافته است و به‌نظر می‌رسد که فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی بیشترین توجه را در زمینه نگهداری محصولات تازه یا فرآیند حداقلی سبزیجات و میوه‌ها در زمان نگهداری را به‌خود اختصاص داده‌اند (Galus *et al*., 2012; Villacres et *al*., 2014). قرن‌ها است که از پوشش‌های خوراکی به‌منظور افزایش ماندگاری و کاهش افت وزن و افزایش درخشندگی میوه‌ها و سبزیجات استفاده می‌شود (Embuscado *et al*., 1991). فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی یکی از موثرترین راه‌ها برای در امان داشتن محصولات تازه یا نیمه فرآینده شده در برابر فساد و افت کیفیت در طول زمان نگهداری می‌باشد. میوه و سبزیجات تحت فرآیندهای متابولیکی مختلف هستند مانند تنفس که در آن سلول‌ها اکسیژن را مصرف و دی‌اکسید کربن را تولید می‌کنند. در میوه‌ها تعرق نیز صورت می‌گیرد که در آن بخار آب موجود در بین دیواره‌های سلولی گیاه تبخیر می‌شود. با استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی می‌توان میزان نفوذ بخار آب، اکسیژن و دی‌اکسید کربن را کنترل کرد (Baldwin *et al*., 2001; Villacres *et al*., 2014). همچنین پوشش‌های خوراکی قابلیت بهبود در حفظ رنگ، اسید، قند و طعم در طول زمان نگهداری را دارا هستند (Nisperos-Carriedo *et al*., 1992).

1 و 2- به‌ترتیب استادیار و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
(* - نویسنده مسئول: Email: mtaghizadeh @um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.65266

ترکیبات شیمیایی برپایه مواد طبیعی استفاده شده برای فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی بر اساس منشا به دسته‌های متفاوتی مانند: پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، چربی‌ها، رزین‌ها و واکس‌ها تقسیم می‌شوند و معمولاً از ترکیباتی مانند کیتوزان، نشاسته، سلولز، آلژینات، زئین، ژلاتین، پروتئین آب پنیر،گلوتن، واکس‌ها و موم‌های برای پوش‌دهی مواد غذایی استفاده می‌شود (Baldwin *et al*., 2011; de Aquino *et al*., 2015).

نشاسته یکی از پلیمرهای طبیعی بوده که به مقدار بسیار زیادی در طبیعت یافت می‌شود و همچنین دارای قیمت بسیار پایینی است و به دلیل ساختار خود که حاوی آمیلوز و آمیلوپکتین است، گزینه بسیار مناسبی برای استفاده از آن به‌عنوان فیلم و پوشش خوراکی می‌باشد زیرا نشاسته نسبت به نفوذ اکسیژن کاملا مقاوم بوده و نسبت به CO_2 نیمه تراوا است و دارای ویژگی‌های مکانیکی مناسبی است در نتیجه برای فیلم‌های بسته‌بندی و پوشش‌های خوراکی مناسب می‌باشد (Baldwin *et al*., 2011; Jimenez *et al*., 2012). یکی از ایرادات نشاسته برای این کار، خاصیت هیدروفوبیکی آن می‌باشد که نسبت به بخار آب تراوا بوده و رطوبت را از خود عبور می‌دهد. برای رفع این ایراد، می‌توان از نشاسته به‌صورت‌های اصلاح شده متفاوتی برای پوشش‌دهی و تولید فیلم استفاده کرد. مانند نشاسته در هم تنیده شده (Cross-link)، نشاسته اکسیداز و نشاسته هیدرولیز شده. همچنین می‌توان از نشاسته با درصدهای مختلف آمیلوز و آمیلوپکتین نسبت به هم استفاده کرد (Embuscado *et al*., 1991). یکی از روش‌های کاهش قابلیت نفوذپذیری به بخار آب برای فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی استفاده از ترکیبات هیدروفوب مانند واکس‌ها، زئین و منوگلیسرید استیله می‌باشد (Petersson *et al*., 2005; Anker *et al*., 2002) که در آنها پوشش‌های خوراکی به‌صورت دو لایه قرار دارد به‌گونه‌ای که در قسمت زیرین، نشاسته و در قسمت رویین، بخش آبگریز قرار می‌گیرد که مانع از خروج بخار آب می‌شود. در پژوهش‌های اخیر برای جلوگیری از تبخیر بخار آب و نفوذ آنها در فیلم‌های خوراکی از روغن‌های گیاهی مانند آفتابگردان، اسید استئاریک و اسید اولئیک که به‌صورت امولسیون در آمده استفاده می‌شود. هرچه اندازه ذرات امولسیون کوچکتر و در ابعاد نانو باشد، حائل بهتری در برابر ورود و خروج بخار آب خواهد بود. همچنین اندازه کوچکتر ذرات امولسیون می‌تواند بر روی واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی، افت وزن و دیگر ویژگی‌های کیفی اثرگذار باشد (Schmidt *et al*., 2013; Sanchez-Ortega *et al*., 2016; Galus *et al*., 2015). هدف این پژوهش استفاده از نشاسته اکسید شده به‌عنوان پایه برای تولید فیلم خوراکی است زیرا نشاسته اکسید شده دارای ویسکوزیته پایینی و شفافیت بالایی می‌باشد. همچنین برای بهبود ویژگی‌های نگهدارندگی، از درصدهای مختلف اسید اولئیک برای تولید فیلم استفاده شده است. سپس نمونه بهینه به‌عنوان پوشش خوراکی بر روی سطح گوجه سبز مورد استفاده قرار گرفته، مدت ماندگاری آن در زمان یخچال‌گذاری مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

نشاسته اکسید شده از شرکت گلوکوزان، گلیسرول، توین 80 و اسید اولئیک از شرکت مرک آلمان و سایر ترکیبات شیمیایی مانند نیترات منیزیم، کربنات کلسیم از شرکت مجللی و گوجه سبز از بازار محلی کرج تهیه شدند.

آماده‌سازی سوسپانسیون نشاسته

برای تولید امولسیون روغن و سوسپانسیون نشاسته از روش سانچز-اورتگا و همکاران (2016)، با کمی اصلاح استفاده شد. ابتدا 4 گرم نشاسته اکسید شده را در 100 میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و به مدت20 دقیقه در دمای 80 درجه با سرعت 50 دور بر دقیقه همزده و در انتهای مرحله آماده‌سازی نشاسته، گلیسرول به نسبت 1 :0/34 ماده خشک نشاسته به‌عنوان نرم‌کننده به محلول اضافه شد.

آماده‌سازی امولسیون و تولید فیلم

برای تولید امولسیون از روش سانچز-اورتگا و همکاران (2016)، با کمی اصلاح استفاده شد. نسبت‌های مختلف ماده خشک به اسید اولئیک 1: 0/05، 1 : 0/10 ، 1: 0/15 به محلول اضافه و همچنین از توئین 80 به‌عنوان امولسیفایر به نسبت 0/2 :1 اسید اولئیک به محلول افزوده شد. برای ایجاد ذرات امولسیون ترکیب حاصل را به‌وسیله (هوموژنایزر) اولتراتوارکس (T25-digitalultra turrax, staufen, Germany) به مدت 3 دقیقه با دور 13000 دور بر دقیقه و به مدت 2 دقیقه با دور 18000 دور بر دقیقه همزده، سپس به مدت 3 الی 5 دقیقه تحت تیمار اولتراسونیک (Model VCX 750, Sonics & Material Inc., Newtown, CT,USA) قرار داده تا امولسیون پایدار تشکیل شد. سپس 30 میلی‌لیتر از محلول را در پتری‌های 10 سانتی‌متری ریخته و در آون تراز شده در دمای 30 درجه به مدت 48 ساعت به‌منظور خشک شدن قرار داده شد.

اندازه‌گیری ویژگی‌های فیلم خوراکی

ضخامت فیلم

برای اندازه‌گیری ضخامت از میکرومتر با دقت 0/01 mm استفاده شد. میزان ضخامت در 5 نقطه از فیلم اندازه‌گیری و میزان میانگین آن گزارش شد.

حلالیت فیلم

برای اندازه‌گیری میزان حلالیت فیلم قطعات مربعی شکل 2 سانتی‌متری از فیلم تهیه شد. میزان وزن خشک نمونه با خشک کردن

آنها در آون 105 درجه به مدت 24 ساعت به‌دست آمد. سپس نمونه‌ها را در محفظه 50 میلی‌لیتری آب به مدت 24 ساعت قرار داده شد. سپس فیلم از آب خارج شده و در آون 105 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت به‌منظور خشک شدن قرار داده شد. سپس میزان وزن نهایی اندازه‌گیری شد.

نفوذپذیری به بخار آب

برای اجرای این آزمایش از استاندارد ASTM-E96 استفاده شد. ابتدا درون سلول‌های اندازه‌گیری نفوذپذیری، کلرید کلسیم بدون آب ریخته و پس از آن سطوح سلول‌ها با فیلم و با استفاده از پارافین مذاب پوشانده شد. سلول‌ها درون دسیکاتور 25 درجه سلسیوس حاوی آب نمک اشباع قرار داده شد. اختلاف رطوبت در دو سمت فیلم در دمای 25 درجه سلسیوس، فشار بخار معادل 1753/55 پاسکال ایجاد کرد. بدین ترتیب تغییر وزن سلول‌ها طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت 0/0001 گرم اندازه‌گیری شد، منحنی تغییرات رسم و شیب خط رسم شده به‌وسیله رگرسیون خطی محاسبه شد. میزان انتقال بخار آب (WVTR) از تقسیم شیب خط کشیده شده (گرم بر ثانیه) بر سطح فیلم (متر مربع) به‌دست آمد (رابطه 1)

$$WVTR = \frac{\text{شیب منحنی}}{\text{مساحت سطح فیلم}} \qquad (1)$$

با ضرب کردن ضخامت فیلم در میزان انتقال بخار آب و تقسیم آن بر اختلاف فشار بین رطوبت نسبی درون سلول ها و رطوبت نسبی دسیکاتور، نفوذ پذیری به بخار آب به دست آمد (رابطه 2).

$$WVP = \frac{WVTR \times \text{ضخامت}}{\text{اختلاف فشار}} \qquad (2)$$

مقاومت کششی

میزان مقاوت کششی، ازدیاد طول تا پارگی با استفاده از دستگاه (Testometric, M350-10CT, England) و طبق استاندارد ASTM D882 ارزیابی شد. نمونه‌ها قبل از آزمون در دسیکاتور حاوی نیترات منیزیم (برای ایجاد رطوبت نسبی 53%) قرار داده شد. نمونه‌های در ابعاد 10 سانتی‌متر در 1 سانتی‌متر تهیه وآنها را بین فک‌ها با فاصله 50 میلی‌متر قرار داده و با بار سل 50kg با سرعت 10 میلی‌متر بر ثانیه تا نقطه شکست مورد آزمون قرار داده شد.آزمون حداقل با 5 تکرار برای هر فیلم انجام شد و مقادیر مقاومت کششی و ازدیاد طول تا پارگی از روی منحنی های تنش- کرنش به‌دست آمدند.

آماده‌سازی و کاربرد پوشش خوراکی

پس از بررسی پارامترهای فیلم درصد مناسب اسید اولئیک انتخاب شده، سپس محلول پوششی نشاسته و اسید اولئیک 8 ،10، 12 گرم در لیتر بر اساس فرمولاسیون فیلم که شامل نشاسته، گلیسرول، اسید اولئیک و توئین 80 است تهیه شد.

آماده‌سازی گوجه سبز

گوجه سبزهای مورد استفاده با اندازه‌های یکسان و در رنگ‌های یکنواخت انتخاب شدند. سپس به مدت 30 دقیقه با آب شستشو داده شده و در دمای اتاق خشک گردیدند. برای پوشش‌دهی، نمونه‌ها در محلول مربوطه به مدت 1 دقیقه قرار داده شده، سپس در دمای محیط خشک شدند. نمونه‌های پوشش داده شده برای انجام آزمون‌های بعدی به مدت 28 روز در دمای 2 تا 7 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

ویژگی‌های گوجه سبز

افت وزن

میزان افت وزن نمونه‌ها در طول نگهداری با استفاده از ترازوی 0/0001 اندازه‌گیری شده و میزان افت وزن به‌صورت درصد گزارش شد.

pH

میزان pH گوجه سبز پس از آبگیری از گوجه سبز توسط دستگاه pHسنج اندازه‌گیری شد.

رنگ میوه

رنگ پوسته پارامتری موثردر بازارپسندی گوجه سبز می‌باشد. رنگ پوسته میوه‌های پوشش‌دار و بدون پوشش در بازه زمانی 4 هفته با استفاده از رنگ‌سنج هانترلب (D24-DP، 9000، آمریکا) به‌صورت عددی L*،a* و b* (به‌ترتیب سفید به سیاه، سبز به قرمز و آبی به زرد) تعیین و گزارش شد. تغییرات رنگ کلی (ΔE) با استفاده از (رابطه 3) محاسبه شد.

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \qquad (3)$$

L_0^* و a_0^* و b_0^* پارامترهای رنگی نمونه‌های گوجه سبز تازه و L^*، a^* و b^* پارامترهای رنگی نمونه‌های گوجه سبز پس از نگهداری هستند.

سفتی

برای اندازه‌گیری میزان سفتی پوسته نمونه، از دستگاه بافت‌سنج با انجام آزمون نفوذ استفاده شد. پروب مورد استفاده، پروب 4/5 میلی‌متری با سرعت 30 میلی‌متر بر دقیقه بود و بیشترین میزان نیروی به‌دست آمده برای نفوذ به عمق 1 سانتی‌متری میوه به‌عنوان سفتی نمونه گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آنالیز واریانس با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. آزمایشات بر پایه طرح کاملا تصادفی و در قابل فاکتوریل و طرح دانکن و در سطح معنی‌داری 5% مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

ضخامت فیلم

نتایج حاصل از اندازه‌گیری ضخامت فیلم نشان داد افزوده شدن اسید اولئیک باعث افزایش میزان ضخامت فیلم‌های خوراکی می‌شود. با توجه به نتایج (جدول 1) بیشترین میزان ضخامت مربوط به فیلم حاوی 15% اسید اولئیک است. کمترین میزان مربوط به نمونه شاهد می‌باشد. این تغییرات در ضخامت در فیلم‌های حاوی 5 و 10% کمتر بوده ولی با افزایش میزان غلظت به 15% میزان ضخامت به‌صورت معنی‌داری افزایش پیداکرده است. نتایج مشابهی نیز توسط فخوری و همکاران (2009)، و Rhim و همکاران (1999)، با افزایش اسیدچرب فیلم گزارش شده است. یکی از دلایلی که افزودن اسید چرب باعث افزایش ضخامت فیلم می‌شود مربوط به افزایش میزان ماده کل در زمان خشک شدن حلال بوده است. همچنین با افزایش اسید اولئیک به ماتریکس پلیمری تعامل بین مولکول‌های پلیمری کاهش یافته و بافت غیرمنسجم و حفره‌دار تشکیل می‌شود که این امر منجر به افزایش ضخامت فیلم می‌شود (Wu *et al*., 2017).

جدول 1- نتایج درصدهای اسید اولئیک بر روی ویژگی‌های فیلم‌های تولید شده

اسید اولئیک (درصد)	ضخامت (mm)	حلالیت (%)	نفوذ پذیری به بخار آب (g/m sec pa)×10^{-10}	مقاومت کششی (MPa)	ازدیاد طول تا پارگی (%)
صفر	0/137±/008 c	23/70±/92a	2/42±/19a	10/05±/60a	37/45±9/09c
5	0/198±/016 b	19/50±/85b	1/83±/11b	8/94±/71b	55/70±3/50ab
10	0/222±/013 b	17/16±/71c	1/33±/05d	6/01±/52c	65/93±4/94a
15	0/302±/034 a	16/34±/90c	1/57±/10c	3/24±/36d	50/46±8/78b

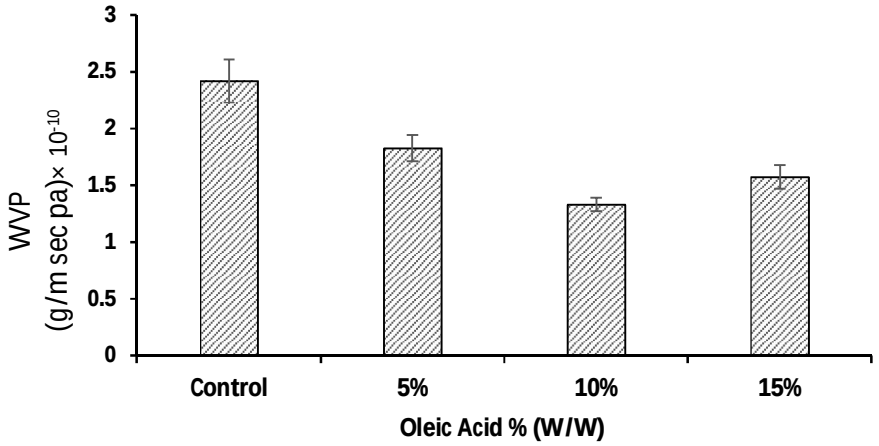
حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان اعداد هر ردیف می‌باشد. (P> 0/05 ، n=3)

حلالیت

اثر روغن بر روی حلالیت‌ها متفاوت بوده در بعضی گزارش‌ها روغن‌ها باعث افزایش و در بیشتر موارد باعث کاهش میزان حلالیت می‌شود. که این نتایج می‌تواند به دلیل ماهیت ماده پایه فیلم برهمکنش آنها و نوع اسید چرب مورد استفاده متفاوت باشد. با تغییر در میزان اسید اولئیک میزان حلالیت فیلم‌ها تغییرات معنی‌داری داشت (جدول 1). با افزایش میزان اسید اولئیک میزان حلالیت کاهش یافته است که این می‌تواند به دلیل تغییر در میزان قطبیت ترکیبات فیلم باشد که با افزایش اسید اولئیک که غیرقطبی است میزان آبگریزی در فیلم افزایش یافته و قسمت‌های قطبی را از دسترس آب دور نگه می‌دارد. البته این تغییرات نسبت به شاهد بیشتر بوده و در نسبت های 10 و 15% معنی‌دار نیست.

نفوذ پذیری به بخار آب

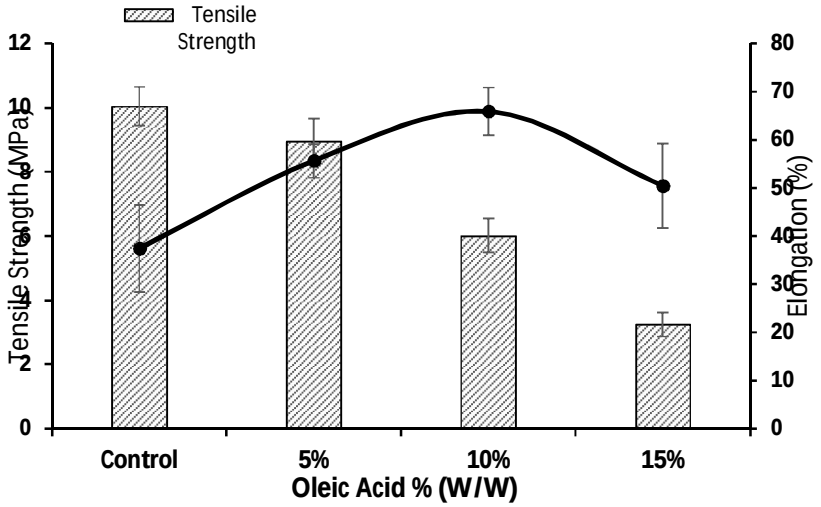
میزان نفوذ پذیری نسبت به بخار آب و سرعت عبور بخار آب از فیلم ها تحت تاثیر طبیعت آب دوست یا آب گریز بودن مواد، فرایند ساخت، نوع و مقدار و نحوه توزیع افزودنی های مورد استفاده، وجود حفره ها، شکاف ها، پیچ و خم ها و سرانجام چگونگی نظم در ساختار پلیمر می باشد (Vasconez *et al*. 2009). گلیسرول موجود در فرمولاسیون نیز به نوعی نفوذ پذیری را کاهش می دهد زیرا با ایجاد حالت نرم کنندگی از ایجاد ترکهای ریز در فیلم جلوگیری کرده و مانع از عبور راحت بخار آب می شود. با توجه به نتایج بدست آمده کمترین میزان نفوذ پذیری به بخار آب مربوط به اسید اولئیک 10% می باشد که با افزایش مقدار به 15% میزان نفوذ پذیری کاهش یافته است . اسید اولئیک به دلیل خاصیت هیدروفیلی ضعیف به صورت معنی داری میزان عبور بخار آب را کاهش می دهد که مشابه نتایج به دست آمده توسط Garcia و همکاران (2000) بوده است. در برخی از تحقیقات، اسید اولئیک بر روی میزان نفوذ پذیری بخار آب تاثیر زیادی نداشته است مانند تاثیر اسید اولئیک بر روی سدیم کازئینات (Fabra et al. 2010)، هیدروکسی کربوکسی متیل سلولز (Jimenez *et al*. 2010) و نشاسته (Jimenez *et al*. 2012) که این نشان دهنده واکنش یا نحوه قرار گیری اسید اولئیک در ساختار فیلم می باشد. اما در پژوهش حاضر از توئین 80 استفاده گردید.بدین ترتیب اسید اولئیک به صورت همگن و پایدار در محلول فیلم پخش شده و به صورت معنی داری جلوی عبور بخار آب را می گیردزیرا امولسیون های ریز و پایداری به وسیله روش تولیدی امولسیون تشکیل شده است.



شکل 1- اثردرصدهای مختلف اسید اولئیک بر روی نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های نشاسته اکسید شده

ویژگی‌های مکانیکی

با توجه به نتایج با افزایش میزان اسید اولئیک میزان مقاومت کششی کاهش یافته است. این تغییرات در سطح احتمال 95% به‌صورت معنی‌دار می‌باشد. در طرف مقابل با افزایش اسید اولئیک میزان ازدیاد طول افزایش یافته است و این میزان در 15% دوباره کاهش داشته است. با توجه به اینکه اسید اولئیک یک اسید چرب با زنجیره کوتاه است می‌تواند در بین رشته‌های آمیلوز و آمیلوپکتین قرار گرفته و نقش نرم‌کننده را داشته باشد و به این دلیل میزان پیوندهای عرضی هیدروژنی را در فیلم کاهش یافته و مقاومت آن کاهش پیدا کرده است و به دنبال آن به دلیل توزیع خوب و مناسب اسید اولئیک کشش‌پذیری فیلم افزایش یافته است (Jimenez *et al*. 2012; Bonilla *et al.* 2012). اما در سطح 15% این میزان اسید اولئیک بسیار زیاد بوده فاصله بین رشته‌های آمیلوز و آمیلوپکتین را زیاد کرده که به دنبال آن فیلم ضعیف شده و مقاومت کششی و ازدیاد طول نیز هر دو کاهش پیدا کرده اند.



شکل 2- اثر غلظت های مختلف اسید اولئیک بر مقاومت کششی و ازدیاد طول تا پارگی

ویژگی‌های گوجه سبز

با توجه به پارامترهای به‌دست آمده در قسمت تولید فیلم از نظر مقاوم مکانیکی و شفافیت و نفوذپذیری به بخار آب فرمولاسیون فیلم تولید شده با 10% اسید اولئیک انتخاب شده و طبق آن محلول‌های با ماده خشک 8، 10 و 12 درصد برای تولید پوشش بر روی میوه گوجه سبز انتخاب شد.

جدول 2- نتایج اثر درصد ماده خشک‌های مختلف پوشش بر روی ویژگی‌های گوجه سبز در طول زمان

زمان	درصد ماده خشک (W/W)	افت وزن (%)	pH	سفتی (N)	رنگ			
					l	a	b	ΔE
روز صفر	شاهد	۰ ^{k}	۳/۳۸±/۰۰۵ ^{h}	۲۶/۱۶±۲/۲۵ ^{i}	۵۳/۴±۲/۸ ^{efg}	−۲۳/۶±۱/۵ ^{efghi}	۲۶/۸±۵/۷ ^{fg}	۵/۸۷±۳/۵ ^{fghij}
	۸٪	۰ ^{k}	۳/۳۷±/۰۰۵ ^{h}	۲۶/۲۶±۱/۶۷ ^{i}	۵۲/۴±۲/۷ ^{efgh}	−۲۳/۲±۱/۳ ^{efg}	۲۴/۸±۲/۸ ^{g}	۴/۷۳±۱/۵ ^{hij}
	۱۰٪	۰ ^{k}	۳/۳۸±/۰۰۵ ^{gh}	۲۶/۸۳±۱/۵۴ ^{hi}	۵۰/۴±۲/۴ ^{gh}	−۲۳/۸±۱/۱ ^{fghi}	۲۹±۱/۴ ^{def}	۳/۳۴±۱/۴ ^{i}
	۱۲٪	۰ ^{k}	۳/۳۷±/۰۰۵ ^{h}	۲۷/۱±۱/۲۲ ^{hi}	۴۹/۶±۲/۶ ^{h}	−۲۳/۸±۰/۷ ^{fghi}	۲۸/۸±۱/۸ ^{ef}	۳/۶۲±۱/۸ ^{hi}
روز ۷	شاهد	۱/۲۰±/۲۳ ^{h}	۳/۳۸±/۰۰۸ ^{gh}	۳۱/۹±۲/۰۱ ^{defg}	۵۸/۶±۲/۱ ^{cd}	−۲۵/۶±۱/۲ ^{i}	۳۴/۶±۲/۹ ^{ab}	۱۰/۶۵±۲/۹ ^{cd}
	۸٪	۰/۷۸±/۱۲ ^{ij}	۳/۳۸±/۰۰۵ ^{gh}	۳۰/۰۶±۱/۱۵ ^{g}	۵۳±۱/۸ ^{efgh}	−۲۵/۲±۱/۶ ^{ghi}	۳۲/۲±۳/۸ ^{abcde}	۵/۵۸±۱/۹ ^{ghij}
	۱۰٪	۰/۵۲±/۳۲ ^{j}	۳/۳۸±/۰۰۵ ^{gh}	۳۰/۵۳±۰/۷۵ ^{fg}	۵۴/۴±۴/۵ ^{ef}	−۲۵/۶±۲/۴ ^{i}	۳۲/۲±۲/۲ ^{abcde}	۷/۳۳±۲/۹ ^{efgh}
	۱۲٪	۰/۴۳±/۱۹ ^{j}	۳/۳۸±/۰۰۸ ^{gh}	۲۹/۶±۰/۴۳ ^{gh}	۵۱/۶±۱/۰ ^{fgh}	−۲۵/۴±۲/۱ ^{hi}	۳۳/۶±۱/۳ ^{abc}	۷/۰۲±۰/۸ ^{efgh}
روز ۱۴	شاهد	۲/۷۱±/۳۱ ^{f}	۳/۴۲±/۰۰۹ ^{d}	۳۵/۲۶±۱/۲۷ ^{bc}	۶۰/۶±۳/۳ ^{c}	−۲۳/۶±۱/۳ ^{efghi}	۳۴/۸±۱/۸ ^{ab}	۱۲/۰۴±۳/۲ ^{c}
	۸٪	۱/۸۴±/۰۷ ^{g}	۳/۳۸±/۰۰۹ ^{gh}	۳۱/۶۶±۱/۲۴ ^{defg}	۵۵/۲±۱/۳ ^{ef}	−۲۳/۸±۰/۷ ^{fghi}	۳۱/۲±۱/۸ ^{bcde}	۶/۷۹±۱/۷ ^{efgh}
	۱۰٪	۱/۰۶±/۱۴ ^{hi}	۳/۳۷±/۰۰۵ ^{h}	۳۲/۳±۱/۶۶ ^{cdefg}	۵۳/۲±۴/۶ ^{efg}	−۲۲/۸±۱/۵ ^{ef}	۳۲/۶±۱/۷ ^{abcd}	۷/۳۸±۳/۰ ^{efgh}
	۱۲٪	۰/۹۵±/۱۵ ^{hi}	۳/۳۷±/۰۰۵ ^{h}	۳۱±۱/۰۸ ^{efg}	۵۲/۴±۳/۶ ^{efgh}	−۲۳±۱/۸ ^{ef}	۳۲/۶±۳/۰ ^{abcd}	۷/۰۲±۲/۳ ^{efgh}
روز ۲۱	شاهد	۶/۰۷±/۷۳ ^{c}	۳/۵۱±/۰۰۸ ^{b}	۳۶/۸±۱/۳۶ ^{b}	۶۸/۸±۲/۵ ^{b}	−۲۲/۶±۱/۸ ^{ef}	۳۵/۲±۱/۷ ^{a}	۱۴/۸۴±۲/۷ ^{b}
	۸٪	۴/۱۸±/۳۶ ^{d}	۳/۴۱±/۰۰۵ ^{dc}	۳۳/۵۳±۰/۷۶ ^{cdef}	۵۹/۴±۱/۶ ^{c}	−۲۳/۴±۱/۲ ^{efgh}	۳۰/۸±۲/۶ ^{cde}	۹/۲۲±۱/۰ ^{de}
	۱۰٪	۲/۱۴±/۲۲ ^{g}	۳/۳۹±/۰۰۵ ^{fg}	۳۲/۳۳±۰/۹۴ ^{cdefg}	۵۵/۲±۲/۴ ^{ef}	−۲۱/۶±۲/۶ ^{de}	۳۲/۶±۱/۹ ^{abcd}	۷/۷۹±۱/۱ ^{defgh}
	۱۲٪	۱/۸۸±/۲۵ ^{g}	۳/۳۹±/۰۰۵ ^{fg}	۳۱/۸۳±۱/۴۳ ^{defg}	۵۴±۱/۱ ^{ef}	−۲۲±۰/۹ ^{ef}	۳۲/۶±۲/۶ ^{abcd}	۶/۳۸±۲/۱ ^{efghi}
روز ۲۸	شاهد	۹/۳۱±/۱۰ ^{a}	۳/۵۷±/۰۰۵ ^{a}	۴۱/۸۶±۲/۰۴ ^{a}	۶۸/۲±۲/۸ ^{a}	−۱۶/۲±۱/۶ ^{a}	۳۵/۲±۱/۲ ^{a}	۲۰/۰۴±۲/۷ ^{a}
	۸٪	۶/۹۵±/۵۶ ^{b}	۳/۴۳±/۰۰۵ ^{c}	۳۴/۶۶±۱/۲۴ ^{bcd}	۵۹/۸±۱/۷ ^{c}	−۱۷±۰/۹ ^{ab}	۳۲/۶±۱/۲ ^{abcd}	۱۲/۰۶±۰/۷ ^{c}
	۱۰٪	۴/۲۰±/۴۷ ^{d}	۳/۴۱±/۰۰۵ ^{d}	۳۳/۹۳±۰/۸۹ ^{bcde}	۵۵/۶±۲/۶ ^{de}	−۱۸/۶±۲/۱ ^{bc}	۳۲±۳/۵ ^{abcde}	۸/۸۹±۲/۹ ^{def}
	۱۲٪	۳/۴۸±/۳۱ ^{c}	۳/۴۰±/۰۰۵ ^{ef}	۳۲/۵±۱/۰۷ ^{cdefg}	۵۵±۲/۶ ^{ef}	−۲۰±۱/۴ ^{cd}	۳۲/۶±۳/۰ ^{abcd}	۸/۱۴±۲/۹ ^{defg}

حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان اعداد هر ردیف می‌باشد. (n=۳ ، P> ۰/۰۵)

افت وزن

مهمترین عامل مهاجرت آب افت وزن مربوط به مهاجرت آب از میوه در زمان نگهداری است (Duan *et al.*, 2011). در این پژوهش با توجه به جدول 2 مشاهده می‌شود که میزان افت وزن برای نمونه‌های پوشش داده شده کمتر از نمونه شاهد است. بیشترین افت وزن مربوط به نمونه شاهد و کمترین آن مربوط به نمونه 12% ماده خشک است که به دلیل اینکه میزان ماده خشک آن بالاتر است ضخامت پوشش داده شده در آن بیشتر بوده و در نتیجه میزان افت وزن در آنها کمتر است. البته همانطور که مشاهده می‌شود تفاوت میان غلظت 10 و 12% معنادار نیست اما تفاوت میان غلظت 8 و 10% با یکدیگر معنادار می‌باشد. این نتایج مشابه دیگر نتایج به‌دست آمده در زمینه پوشش‌ها می‌باشد (Fakhouri *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2007). این نتایج ویژگی مانعت‌کنندگی این محلول پلیمری را در برابر عبور بخارآب، اکسیژن، دی‌اکسید کربن تایید می کند (Mali *et al.*, 2006; Garcia *et al.*, 2000).

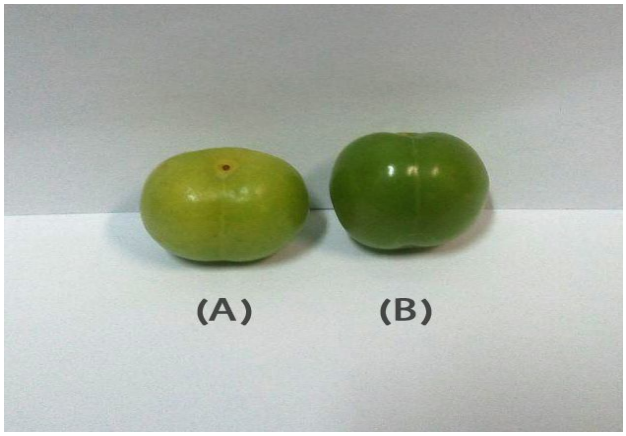
pH

با توجه به داده‌های ارائه شده در جدول 2 در تمامی تیمارها با گذشت زمان pH افزایش پیدا کرده است. البته در هفته اول تغییرات غیرمعنی‌دار بود اما در هفته دوم به بعد این افزایش در نمونه شاهد معنادار و در نمونه‌های با غلظت‌های مختلف معنادارنبود. افزایش میزان pH در نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های پوشش داده شده به دلیل متفاوت بودن نرخ تنفس در آنها است. با کند شدن تفس تجزیه اسیدهای آلی که اصلی ترین ترکیبات تحت تاثیر تفس هستند کاهش می‌یابد که این عامل بر روی pH تاثیرگذار است (Duan *et al.*, 2016). نمونه‌های دارای پوشش به علت ممانعت‌کنندگی در برابر عبور گازها مقدار سرعت تنفس را کاهش داده که به دنبال آن میزان تغییرات

pH در آن کندتر اتفاق می‌افتد. این نتایج مطابق نتایج به‌دست آمده توسط Abugoc و همکاران (2015)، و Gol و همکاران (2015)، می‌باشد.

رنگ میوه

میزان روشنایی و تغییرات رنگ پوسته‌ها در (جدول 2) نمایش داده شده است. تغییرات رنگ در هفته اول و دوم معنادار نیست اما با گذشت زمان در هفته سوم و چهار تغییرات معنادار بوده و در نمونه‌های شاهد میزان روشنایی در آنها بیشتر و میزان سبزی در آنها کمتر شده است (شکل 5). تغییرات رنگ در میوه‌ها می‌تواند در اثر از دست دادن رطوبت و واکنش‌های شیمیایی و آنزیم در آنها اتفاق بیافتد. آنزیم‌های پروتئولیتیکی مانند پلی‌فنول اکسیداز باعث تخریب ترکیبات فنولی می‌شود که بر روی رنگ تاثیرگذار است (Solvia-Fortuny *et al*., 2002; Ramirez *et al*., 2015). با توجه به نتایج به دلیل پوشش بر روی گوجه سبز تغییرات رنگ در نمونه دارای 12% ماده خشک کمترین میزان تغییرات رنگ در آن دیده و با توجه به تغییرات رطوبت می‌تواند همبستگی بین میزان تغییرات رطوبت و تغییرات رنگ را مشاهده کرد که در تیمارهای با تغییرات رطوبت پایین میزان تغییرات رنگ نیز در آنها کمتر می‌باشد.



شکل 3- گوجه سبز بدون پوشش (A)، گوجه سبز حاوی 10 ماده خشک (B).

سفتی میوه

عوامل متعددی می‌توانند بر روی سفتی اثرگذار باشند و اینکه با چه روش و چه قسمتی از ماده مورد آزمون قرار گرفته باشد نتایج متفاوت است. با توجه به (جدول 2) می‌توان دیدکه میزان سفتی پوسته در گوجه سبز با افزایش زمان به‌صورت معنی‌داری افزایش یافته است که بیشترین آن مربوط به نمونه شاهد و کمترین آن مربوط به نمونه حاوی 15% ماده خشک است. احتمالات مختلفی در مورد دلیل افزایش میزان سفتی بافت در طول دوره نگهداری وجود دارد مانند وجود کلرید در آب شستشوی میوه‌ها و ترکیب با پوشش یا پوسته و افزایش میزان سفتی میوه‌ها (Qi *et al*., 2011) و یا مرتبط بودن آن با کاهش میزان رطوبت در محصول می‌باشد که با از دست دادن رطوبت مخصوصا پوسته حالت الاستیک‌تری به‌خود گرفته و میزان نیروی لازم برای نفوذ در آن افزایش می‌یابد (Ramirez *et al*., 2015; Moallemiyan *et al*., 2012). با توجه به نتایج بیشترین افت وزن و از دست دادن رطوبت مربوط به نمونه شاهد است که بیشترین سفتی را در طول زمان از خود نشان داده که با پوشش دادن این تغییرات به‌صورت معنی‌داری کمتر شده که مشابه نتایج دیگر محققان است (Ramirez *et al*., 2015; Martinz 2010; Pizato *et al*., 2013).

نتیجه‌گیری

به‌صورت کلی مشاهده شد که در تولید فیلم با افزایش میزان اسید اولئیک میان ضخامت و ازدیاد طول تا پارگی افزایش ولی مقاومت کششی و نفوذپذیری به بخار آب و حلالیت کاهش پیدا کرده است. با توجه به روش تولید امولسیون میزان نفوذپذیری به بخار آب کاهش معنی‌داری داشته که بسیار ارزشمند است. ولی از طرفی این مقدار اسید اولئیک را نمی‌توان تا مقدار زیادی افزایش داد زیرا بافت فیلم خواص خود را از دست داده و قابلیت نفوذپذیری و مقاومت کششی و ازدیاد طول تا پارگی به‌صورت معنی‌داری کاهش پیدا می‌کند. با توجه به نتایج، پوشش حاوی 10% اسید اولئیک برای پوشش‌دهی میوه انتخاب شد.

استفاده از غلظت‌های مختلف ماده خشک امولسیون در پوشش‌دهی گوجه سبز تاثیر معنی‌داری در جلوگیری از افت وزن سفتی و افت رنگ میوه‌ها داشته است (شکل 5). اما این تغییرات در بین غلظت‌های مختلف، زیاد معنادار نمی‌باشد و به نظر می‌رسد می‌توان از غلظت 10 و 12% امولسیون نشاسته اکسید شده و اسید اولئیک برای پوشش دهی مناسب با کمترین افت وزن و رنگ استفاده کرد. با توجه به اینکه نشاسته اکسید شده بسیار شفاف و درخشنده است و ویسکوزیته

پایینی دارد از لحاظ شکل ظاهری تاثیر منفی نداشته و میتوان از آن در پوشش مواد غذایی استفاده کرد.

منابع

Bourtoom, T., 2008. Edible films and coatings: characteristics and properties. International Food Research Journal, 15(3): p. 237-248.

Baldwin, E.A., R. Hagenmaier, and J. Bai, 2011. Edible coatings and films to improve food quality: *CRC Press*.

Fakhouri, F.M., et al., 2015. Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 109: p. 57-64.

Galus, S., et al., 2012. Effect of modified starch or maltodextrin incorporation on the barrier and mechanical properties, moisture sensitivity and appearance of soy protein isolate-based edible films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16: p. 148-154.

Villacrés, R.A.E., S.K. Flores, and L.N. Gerschenson, 2014. Biopolymeric antimicrobial films: Study of the influence of hydroxypropyl methylcellulose, tapioca starch and glycerol contents on physical properties. *Materials Science and Engineering*: C, 36: p. 108-117.

Embuscado, M.E. and K.C. Huber, 1991. Edible films and coatings for food applications. 2009: Springer.

Nisperos-Carriedo, M.O., E.A. Baldwin, and P.E. Shaw, 1991. Development of an edible coating for extending postharvest life of selected fruits and vegetables. *J. Amer. Hort. Sci*, 107: p. 57-60.

de Aquino, A.B., A.F. Blank, and L.C.L. de Aquino Santana, 2015. Impact of edible chitosan–cassava starch coatings enriched with Lippia gracilis Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (Psidium guajava L.) during storage at room temperature. *Food chemistry*, 171: p. 108-116.

Jiménez, A., et al., 2012. Edible and biodegradable starch films: a review. Food and Bioprocess *Technology*, 5(6): p. 2058-2076.

Petersson, M. and M. Stading, 2005. Water vapour permeability and mechanical properties of mixed starch-monoglyceride films and effect of film forming conditions. *Food Hydrocolloids*, 19(1): p. 123-132.

Anker, M., et al., 2002. Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(1): p. 81-92.

Schmidt, V.C.R., et al., 2013. Water vapor barrier and mechanical properties of starch films containing stearic acid. *Industrial Crops and Products*, 41: p. 227-234.

Sánchez-Ortega, I., et al., 2016. Characterization and antimicrobial effect of starch-based edible coating suspensions. *Food Hydrocolloids*, 52: p. 906-913.

Galus, S. and J. Kadzińska, 2015. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology*, 45(2): p. 273-283.

Fakhouri, F.M., et al., 2009. Effect of fatty acid addition on the properties of biopolymer films based on lipophilic maize starch and gelatin. *Starch-Stärke*, 61(9): p. 528-536.

Rhim, J.-W., et al., 1999. Physical characteristics of emulsified soy protein-fatty acid composite films. *Sciences des aliments*, 19(1): p. 57-71.

Gontard, N., et al., 1994. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. I*nternational journal of food science & technology*, 29(1): p. 39-50.

Taqi, A., et al., 2013. Effect of Laurus nobilis L. oil, Nigella sativa L. oil and oleic acid on the antimicrobial and physical properties of subsistence agriculture: the case of cassava/pectin based edible films. *Food and agricultural immunology*, 24(2): p. 241-254.

Pérez-Mateos, M., P. Montero, and M. Gómez-Guillén, 2009. Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. *Food Hydrocolloids*, 23(1): p. 53-61.

Vásconez, M.B., et al., 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, 42(7): p. 762-769.

Fabra, M., P. Talens, and A. Chiralt, 2010. Properties of sodium caseinate films containing lipids. Food Hydrocolloids: Characteristics, *Properties and Structures.* Novapublishers,

Jiménez, A., et al., 2010. Effect of lipid self-association on the microstructure and physical properties of hydroxypropyl-methylcellulose edible films containing fatty acids. *Carbohydrate Polymers*, 82(3): p. 585-593.

Jiménez, A., et al., 2012. Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 26(1): p. 302-310.

Bonilla, J., et al., 2012. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. *Food Hydrocolloids*, 26(1): p. 9-16.

Duan, J., et al., 2011. Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storage conditions. P*ostharvest Biology and Technology*, 59(1): p. 71-79.

Ribeiro, C., et al., 2007. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 44(1): p. 63-70.

Mali, S., et al., 2006. Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. *Journal of Food Engineering*, 75(4): p. 453-460.

Garcia, M., M. Martino, and N. Zaritzky, 2000. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. J*ournal of food science*, 65(6): p. 941-944.

Duan, J., et al., 2016. Effect of combined chitosan-krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets. *Food Chemistry*, 2010. 122(4): p. 1035-1042.

Abugoch, L., et al., 2015. Shelf-life of fresh blueberries coated with quinoa protein/chitosan/sunflower oil edible film. *Journal of the Science of Food and Agricultur*e, 96(2): p. 619-626.

Gol, N.B., M.L. Chaudhari, and T.R. Rao, Effect of edible coatings on quality and shelf life of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 52(1): p. 78-91.

Soliva-Fortuny, R.C., et al., 2002. Browning, polyphenol oxidase activity and headspace gas composition during storage of minimally processed pears using modified atmosphere packaging. J*ournal of the Science of Food and Agriculture*, 82(13): p. 1490-1496.

Ramirez, M., et al., 2015. Effect of Chitosan, Pectin and Sodium Caseinate Edible Coatings on Shelf Life of Fresh-Cut Prunus persica var. Nectarine. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6): p. 2687-2697.

Qi, H., et al., 2011. Extending shelf-life of fresh-cut 'Fuji'apples with chitosan-coatings. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(1): p. 62-66.

Moalemiyan, M., H.S. Ramaswamy, and N. Maftoonazad, 2012. Pectin-Based Edible Coating For Shelf-Life Extension Of Ataulfo Mango. *Journal of Food Process Engineering*, 35(4): p. 572-600.

Martins, R., 2010, Minimal processing of peaches Aurora-1': Stages of maturation, packaging, storage temperatures and natural additives. Thesis. School of Agricultural Sciences and Veterinary). Estadual Paulista University. 145p.

Pizato, S., et al., 2013. Effects of different edible coatings in physical, chemical and microbiological characteristics of minimally processed peaches (prunus persica l. batsch). *Journal of Food Safety*, 33(1): p. 30-39.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 517-527

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 527-517

Investigation of physical and mechanical properties of edible film based on starch and oleic acid: application of coating on Greengage

M. Taghizadeh[1*], A. Eghbal[2]

Received: 2017.09.22
Accepted: 2018.11.06

Introduction: One of the methods for increasing shelf life of food is the use of edible coatings, since films and coatings have an important role in the enhance of shelf life and food product's marketing. Various edible films are nowadays used for food packaging. Using of these biodegradable compounds is a new method of replacing polymeric materials and of increasing shelf life of food. Film and coating can control the diffusion of water, oxygen and carbon dioxide. Edible coatings also have the ability to enhance color, acid, sugar and taste during storage. Starch as a natural polymer be a lot in the nature and has a low cost and due to its structure containing amylose and amylopectin it is a suitable option for its use as film and edible coating because starch is barrier for oxygen, semi-permeable to CO2, and has good mechanical properties, therefore suitable for packaging films and edible coatings. However, due to the hydrophilic properties of starch, the starch based films are permeable to moisture and water vapor. One of the ways to reduce water vapor permeability for films and edible coatings is to use hydrophobic compounds such as oleic acid that formed in two layers. There is starch in the lower part of layer. Hydrophobic compound place in the upper layer and it is the barrier for water vapor. The main purpose of this research was to produce edible films based on starch and oleic acid and to investigate their characteristics (thickness, solubility, water vapor permeability, and tensile strength). One of the suitable treatments was then selected and tested at three concentrations as a film coating for greengage, and cases of pH drop and loss of weight, color, and hardness of the samples were recorded for four weeks.

Material and methods: First, the film of starch and oleic acid were prepared and then the edible film characteristics such as thickness, solubility, water vapor permeability and tensile strength were measured. After evaluating the film parameters, the optimal amount of oleic acid was selected, then the starch and oleic acid solution of 8, 10, 12 g / l were prepared based on film formulation including starch, glycerol, oleic acid and tween 80. Then the characteristics of Greengage such as weight loss, pH, color and rigidity were measured.

Result & discussion: The addition of oleic acid resulted increases in thickness of the edible films because of the increase in the material during solvent drying and variation in the relative humidity of the environment during drying of the material.

Solubility: By increasing the amount of oleic acid, the amount of solubility decreased, which could be due to the change in the polarity of the film compounds, which increases the hydrophobicity of the film by increasing the oleic acid that is non-polar, and keep the polar parts away from water. Oleic acid, due to good hydrophilic properties, significantly reduces the vapor flow rate. According to the results, the lowest water vapor permeability is for 10% of oleic acid in the film. According to the results, the amount of tensile strength decreased with increasing oleic acid content. On the other hand, elongation has increased with the increase of oleic acid, and this again decreased in the film with 15% oleic acid. Oleic acid is a short-chain fatty acid, so it can be located between the amylose and amylopectin strands as a plasticizer and because of this, the amount of hydrogen cross link in the film has decreased and its resistance has decreased. Subsequently tensile stress of film increased due to the good and proper distribution of oleic acid in the film. But at the level of 15%, this amount of oleic acid was high, increasing the gap between the amylose and amylopectin strands, followed by weakened films, and both the tensile strength and long elongation were reduced. Regarding the parameters obtained in the film production (mechanical strength and transparency and water vapor permeability) the film formulation with 10% oleic acid was selected and the solutions with total solid of 8%, 10% and 12% for Greengage coating are selected. It is observed that weight loss for coated samples is less than the control sample. These results confirm the starch barrier against the passage of oxygen and carbon dioxide. In all treatments pH has increased over time. The increase in pH in the control sample is than the coated samples because of different respiration rates. Coated sample is a suitable gass barrier followed by reduce the amount of respiration rate, resulting in a slower rate of pH change. In the third and fourth weeks, changes were significant, and in the control samples, the amount of light was higher and the green's index in them decreased. Color changes in fruits can take place due to loss of moisture and chemical and enzymes reactions. Proteolytic

1 and 2. Assistant Professor and M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad.
(* Corresponding author E-mail: mtaghizadeh @um.ac.ir)

enzymes such as polyphenol oxidase can destroy phenolic compounds that affect color. According to the results, the highest weight loss and moisture loss associated with the control sample showed the highest rigidity over time, which significantly reduced these changes with coating the sample. It seems that the concentration of 10 and 12% of oxidized starch and oleic acid emulsion can be used for proper coating with the least loss of weight and color. Due to the fact that the oxidized starch is very transparent and has a low viscosity, its appearance is not negatively affected and can be used in food coatings.

Key words: Film, Coating, Oxidized Starch, Oleic acid, Greengage.

Contents

The effect of wheat germ powder on physicochemical, microbial and sensory properties of kefir beverage 495
S. Ahmadian Mask, F. Tabatabai, S. A. Mortazavi, A. Koocheki
The effect of incorporating of ZnO/ Ag nanoparticles on functional properties of poly vinyl alcohol packaging films 417
Z. Karimi Valoujaei, M. H. Abbaspour- Fard, M. H. Aghkhani, S. Tarighi
Physical and chemical properties of whipped cream containing Liquorice powder 430
Z. Hosseinpour, H. Karazhiyan
Proprietary diagnosis of aflatoxin G1 based on aptasensor colorimetry using gold nanoparticles Suspension 439
A. Hashemnia, V. Hakimzadeh
The effect of some species of yeasts on reduction of aflatoxin B1 of Aspergillus flavus in simulated model of human stomach 452
S. Bahram vand, S. Mohammadi
Investigation of mechanical, physical and antibacterial gelatin film incorporated by Turmeric (*Curcuma longa*) hydrosol 463
Z. Didar
Modeling of hardness and drying kinetics of "quince" fruit drying in an infrared convection dryer using the artificial neural network 474
A. Gitiban, N.Asefi
Evaluation of physicochemical properties of pectin extracted from eggplant waste using ultrasound technique 483
M. Noshad*, M. A. Mehrnia, N. Dehghan
The influence of pulsed electric field and microwave pre-treatments on some characteristics of oil and meal obtained from Niger seed 495
N. M. Mohseni , H. O. Mirzaei , M. Moghimi
The influence of pulsed electric field and microwave pre-treatments on some characteristics of oil and meal obtained from Niger seed 505
Z. Alaei Roozbahani
Comparison of antifungal effects of nigella sativa oil and extract with imazalil on two apple cultivars in cold storage 515
S. Eynafshar
Comparison of antifungal effects of nigella sativa oil and extract with imazalil on two apple cultivars in cold storage 527
M. Taghizadeh, A. Eghbal

Iranian Food Science and Technology Research Journal

Vol. 15 No. 4 2019

Published by: Ferdowsi University of Mashhad

Executive Manager: Shahnoushi, N.

Editor-in-Chief: Tabatabaei yazdi, F.

Editorial Board:

Farahnaki, A.	Assoc. Prof. in Food Engineering
Farhoosh, R.	Prof. in Food Chemistry
Habibi najafi, M.	Prof. in Microbiology
Kashaninejad, M.	Prof. in Food Engineering
Khomeiri, M.	Prof. in Microbiology
Mortazavi, Seyed A.	Prof. in Microbiology and Biotechnology
Razavi, Seyed M. A.	Prof. in Food Engineering
Shahidi, F.	Prof. in Microbiology
Tabatabaei yazdi, F.	Prof. in Microbiology

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.4

2019

Iranian Food Science and Technology Research Journal

Iranian food science and technology Association

ISSN:1735-4161

Contents

The effect of wheat germ powder on physicochemical, microbial and sensory properties of kefir beverage 495
S. Ahmadian Mask, F. Tabatabai, S. A. Mortazavi, A. Koocheki

The effect of incorporating of ZnO/ Ag nanoparticles on functional properties of poly vinyl alcohol packaging films 417
Z. Karimi Valoujaei, M. H. Abbaspour- Fard, M. H. Aghkhani, S. Tarighi

Physical and chemical properties of whipped cream containing Liquorice powder 430
Z. Hosseinpour, H. Karazhiyan

Proprietary diagnosis of aflatoxin G1 based on aptasensor colorimetry using gold nanoparticles Suspension 439
A. Hashemnia, V. Hakimzadeh

The effect of some species of yeasts on reduction of aflatoxin B1 of Aspergillus flavus in simulated model of human stomach 452
S. Bahram vand, S. Mohammadi

Investigation of mechanical, physical and antibacterial gelatin film incorporated by Turmeric (*Curcuma longa*) hydrosol 463
Z. Didar

Modeling of hardness and drying kinetics of "quince" fruit drying in an infrared convection dryer using the artificial neural network 474
A. Gitiban, N.Asefi

Evaluation of physicochemical properties of pectin extracted from eggplant waste using ultrasound technique 483
M. Noshad, M. A. Mehrnia, N. Dehghan

The influence of pulsed electric field and microwave pre-treatments on some characteristics of oil and meal obtained from Niger seed 495
N. M. Mohseni , H. O. Mirzaei , M. Moghimi

The influence of pulsed electric field and microwave pre-treatments on some characteristics of oil and meal obtained from Niger seed 495
Z. Alaei Roozbahani

Comparison of antifungal effects of nigella sativa oil and extract with imazalil on two apple cultivars in cold storage 515
S. Eynafshar

Comparison of antifungal effects of nigella sativa oil and extract with imazalil on two apple cultivars in cold storage 527
M. Taghizadeh, A. Eghbal

نشریه علمی پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران جلد ۱۵ شماره ۴ سال ۱۳۹۸

Iranian Food Science and Technology Research Journal Vol.15 No.4 2019