

شاپا: ۴۱۶۱-۱۷۳۵

شماره پیاپی ۶۰

عنوان مقالات

- ۱..... اثر جایگزینی روغن با پنیر توفو و صمغ فارسی بر خصوصیات بافتی، رئولوژیکی و فیزیکیوشیمیایی سس مایونز
مریم محمدخانی - محمد فاضل
- ۱۷..... خواص فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی میوه توت فرنگی رقم پارس (Paros Variety) در طبقات مختلف
فرهاد فاتحی - اصغر محمودی - عادل حسین پور - هادی صمیمی اخججانی
- بهینه سازی فرآیند تولید قرص فشرده گوجه فرنگی بر مبنای ویژگی های فیزیکی، مکانیکی و حرارتی در شرایط
هوای گرم با پیش تیمار مایکروویو
۲۹..... منوچهر رشیدی - رضا امیری چایجان - علی قاسمی
- برهمکنش خاصیت ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی ریحان (*Ocimum basilicum*)، مریم گلی
۴۳..... (*Salvia officinalis*) و دارچین در دوغ
هاجر شهنواز - مرضیه بلندی - هما بقایی
- تجزیه و تحلیل پروفیل بافتی (TPA) برش های سیب خشک شده با پرتو دهی مادون قرمز با روش
حرارت دهی متناوب
۵۷..... حسن صباغی - امان محمد ضیائی فر - مهدی کاشانی نژاد
- بهینه سازی فرمول پودینگ طالبی با کمک جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا با شیر خشک و شکر
به روش سطح پاسخ
۷۳..... الناز شفیعی - محمد گلی
- بررسی تأثیر نوع عمل (گون، کنار، مرکبات و آویشن) و شرایط نگهداری بر مهم ترین ویژگی های کیفی محصول
فاطمه خدائیان - هاجر عباسی
- اثرات هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) بر برخی خصوصیات
کیفی و پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکای ریزپوشانی شده
۱۰۵..... سید حسن جلیلی - رضا فرهوش - آرش کوچکی - عباسعلی مطلبی
- اصلاح شیمیایی کیتوزان از طریق واکنش گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی به منظور بهبود خواص ضد میکروبی
و آنتی اکسیدانی آن
۱۱۷..... فخری شهیدی - فریده طباطبایی یزدی - مجید نوش کام - زهرا زارعی - فرشته فلاح
- بررسی تأثیر افزودن دو صمغ لوبیای خرنوب و زانتان بر زنده ماندن باکتری های پروبیوتیک و ظرفیت
نگهداری آب ماست سین بیوتیک شتر
۱۳۱..... ژاله سادات لاجوردی - محمد سعید یارمند - زهرا امام جمعه - امیر نیاسری نسلجی

ادامه فهرست داخل جلد

نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران

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

فروردین - اردیبهشت 1399

شماره 1

جلد 16

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

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر ناصر شاهنوشی

سردبیر: دکتر فریده طباطبایی

اعضای هیئت تحریریه:

دکتر سید علی مرتضوی

دکتر فخری شهیدی

دکتر محمداقبر حبیبی نجفی

دکتر مرتضی خمیری

دکتر سید محمد علی رضوی

دکتر رضا فرهوش

دکتر بی بی صدیقه فضلای بزاز

دکتر مهدی کاشانی نژاد

دکتر آرش کوچکی

دکتر محبت محبی

دکتر بابک قنبرزاده

دکتر ایران عالمزاده

دکتر قدیر رجبزاده اوغاز

دکتر مهیار حیدرپور

دکتر حمید بهادر قدوسی

دکتر کیانوش خسروی

دکتر مرتضی عباسزادگان

دکتر محمدمامین محمدیفر

دکتر منوچهر وثوقی

استاد، میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

استاد، میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

استاد، میکروبیولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

دانشیار، میکروبیولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

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

استاد، شیمی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

استاد، میکروبیولوژی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

استاد، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

استاد، تکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

استاد، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

استاد، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه تبریز

استاد، بیوتکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه صنعتی شریف

دانشیار، نانو فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

دانشیار، زیست مولکولی، دانشکده پزشکی هاروارد

دانشیار، میکروبیولوژی غذایی، دانشگاه متروپولیتن لندن

استاد، بیوتکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

استاد، ویروس شناسی، دانشگاه آریزونا

استاد، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه دانمارک

استاد، بیوتکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه صنعتی شریف

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد - کد پستی 91775 صندوق پستی 1163

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

تلفن: 8795618-20 داخلی 321 نمابر: 8787430

این نشریه در پایگاههای زیر نمایه شده است:

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

پست الکترونیکی: ifstrj@um.ac.ir

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

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

- 1 اثر جایگزینی روغن با پنیر توفو و صمغ فارسی بر خصوصیات بافتی، رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی سس مایونز
مریم محمدخانی - محمد فاضل
- 17 خواص فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی میوه توت فرنگی رقم پاروس (Paros Variety) در طبقات مختلف
فرهاد فاتحی - اصغر محمودی - عادل حسین پور - هادی صمیمی اخيجهانی
- 29 بهینه‌سازی فرآیند تولید قرص فشرده گوجه‌فرنگی بر مبنای ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی و حرارتی در شرایط هوای گرم با پیش
تیمار مایکروویو
منوچهر رشیدی - رضا امیری چایجان - علی قاسمی
- 43 برهمکنش خاصیت ضد میکروبی عصاره هیدروآلکلی ریحان (*Ocimum basilicum*)، مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) و دارچین در
دوغ
هاجر شهسوار - مرضیه بلندی - هما بقایی
- 57 تجزیه و تحلیل پروفیل بافتی (TPA) برش‌های سیب خشک‌شده با پرتودهی مادون قرمز با روش حرارت‌دهی متناوب
حسن صباغی - امان محمد ضیائی‌فر - مهدی کاشانی‌نژاد
- 73 بهینه‌سازی فرمول پودینگ طالبی با کمک جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا با شیر خشک و شکر به روش سطح پاسخ
الناز شفیعی - محمد گلی
- 85 بررسی تأثیر نوع عسل (گون، کنار، مرکبات و آویشن) و شرایط نگهداری بر مهم‌ترین ویژگی‌های کیفی محصول
فاطمه خدائیان - هاجر عباسی
- 105 اثرات هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) بر برخی خصوصیات کیفی و پایداری اکسایشی
روغن ماهی کیلکای ریز پوشانی شده
سید حسن جلیلی - رضا فرهوش - آرش کوچکی - عباسعلی مطلبی
- 117 اصلاح شیمیایی کیتوزان از طریق واکنش گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی به منظور بهبود خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن
فخری شهیدی - فریده طباطبایی یزدی - مجید نوش‌کام - زهرا زارعی - فرشته فلاح
- 131 بررسی تأثیر افزودن دو صمغ لوبیای خرنوب و زانتان بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و ظرفیت نگهداری آب ماست
سین‌بیوتیک شتر
ژاله سادات لاجوردی - محمد سعید یارمند - زهرا امام جمعه - امیر نیاسری نسلجی
- 145 پیش‌بینی برخی ویژگی‌های کیفی میوه انبه رقم کلک سرخ با استفاده از پردازش تصاویر رنگی و شبکه‌های عصبی مصنوعی
امید دوستی ایرانی - عباس روحانی - محمودرضا گلزاریان - منصوره شمیلی - پیمان آذرکیش
- 157 مطالعه مقایسه‌ای خصوصیات فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی ژلاتین استخراج شده از پوست فیل ماهی (*Huso huso*) با روش شیمیایی
و آنزیمی
زهرا اسکندری - سید علی جعفرپور

اثر جایگزینی روغن با پنیر توفو و صمغ فارسی بر خصوصیات بافتی، رئولوژیکی و

فیزیکوشیمیایی سس مایونز

مریم محمدخانی¹ - محمد فاضل^{2*}

تاریخ دریافت: 1397/12/01

تاریخ پذیرش: 1398/02/25

چکیده

افزایش تمایل جامعه به مصرف مواد غذایی سالم و کم کالری، منجر به تولید محصولات غذایی کم چرب و سالم شده است. در این تحقیق اثر جایگزینی روغن با پنیر توفو و صمغ فارسی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافت، اندازه ذرات، رئولوژیکی و حسی مورد بررسی قرار گرفت. توفو، در سه غلظت 20، 35 و 50 درصد، جایگزین روغن و صمغ فارسی، در سه غلظت 2/5، 3، 3/5 درصد، به سس اضافه شد. نمونه، با چربی 60 درصد و صمغ گزانتان (1/5 درصد) نیز به عنوان شاهد بود. با افزایش توفو، pH و اسیدیته، افزایش و با افزایش صمغ، اسیدیته، کاهش یافت. با افزایش توفو، ویژگی‌های بافتی (سفتی، چسبندگی، نیروی چسبندگی، کار لازم برای فشردن، مدول ظاهری)، کاهش یافت و افزایش صمغ، ویژگی‌های بافتی را افزایش داد. افزایش توفو، باعث کاهش میانگین اندازه ذرات شد. با افزایش صمغ، تا 3 درصد، میانگین اندازه ذرات کاهش و با افزایش بیشتر صمغ، میانگین اندازه ذرات افزایش پیدا کرد. رفتار رئولوژیکی تمام نمونه‌ها در سرعت برشی 0/01 تا 1000 (بر ثانیه) نشان داد که، ویسکوزیته، با افزایش توفو، کاهش و با افزایش صمغ، افزایش پیدا کرد. در همه نمونه‌ها، با افزایش سرعت برشی، ویسکوزیته کاهش پیدا کرد و نمونه‌ها، رفتار سودوپلاستیک داشتند و پارامترهای قانون توان نیز، آن را به خوبی نشان داد. نمونه سس مایونز، با 20 درصد پنیر توفو و 3/5 درصد صمغ فارسی، به عنوان نمونه برتر شناخته شد که خواص آن به سس مایونز پرچرب، نزدیک بود و می‌توان آن را تحت عنوان مایونز با چربی کاهش یافته معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: سس مایونز کم چرب، پنیر توفو، صمغ فارسی، مدول الاستیک، مدول ویسکوز.

مقدمه

صمغ فارسی، پلی ساکارید محلول در آب، با قدرت بالای جذب آب می‌باشد (عباسی و رحیمی، 1387). سویا بر حسب ماده خشک حاوی حدود 35-40 درصد پروتئین می‌باشد از این رو یک منبع عمده و ارزان قیمت پروتئین برای مصرف انسان است. از دانه سویا در تولید بسیاری از محصولات غذایی استفاده می‌شود، که توفو با ارزش‌ترین و مهم‌ترین آنها می‌باشد. توفو یک نوع غذای پر پروتئین جامد است که از لوبیای سویا به دست می‌آید و شبیه پنیر نرم است (Derbyshire et al., 1976). در پژوهشی که میرغفوری و رحیمی (1395) انجام دادند از ژل آلوتورا به عنوان جایگزین روغن و از شیر سویا به عنوان جایگزین تخم مرغ در تهیه سس مایونز با چربی کاهش یافته استفاده شد. افزایش میزان ژل آلوتورا بر اسیدیته و رطوبت نمونه‌ها اثر معنی داری داشته، در حالی که افزودن شیر سویا، تنها بر مقدار رطوبت مؤثر بود. با افزایش سرعت چرخشی و محتوای ژل آلوتورا، رفتار سس مایونز از رقیق شونده با برش به نیوتنی تغییر یافت. افزودن شیر سویا نیز سبب کاهش گرانیروی در کلیه نمونه‌ها شد. ژل آلوتورا، کلیه ویژگی‌های حسی را نیز به طور معنی داری تحت تأثیر قرار داد. در پژوهشی که برزگری و همکاران (1392) انجام دادند از صمغ فارسی به همراه کربوکسی متیل سلولز استفاده شد. در ویژگی‌های بافتی،

سس مایونز یک امولسیون روغن در آب است که شامل 70 تا 80 درصد چربی بوده و با مخلوط کردن تخم مرغ، سرکه، روغن و ادویه‌ها، به ویژه خردل تهیه می‌شود. چنانچه میزان چربی در سس مایونز حداقل 25 درصد (از 66 درصد چربی) کاهش یابد، تحت عنوان سس مایونز با چربی کاهش یافته و اگر 50 درصد چربی کاهش یابد، سس مایونز کم چرب محسوب می‌شود (استاندارد ملی ایران، شماره 2454). تاکنون از چندین مواد جایگزین کننده چربی مانند نشاسته اصلاح شده، اینولین، پکتین، سلولز، کاراگینان، زانتان، گوار و پروتئین‌ها جهت پایداری امولسیون و افزایش گرانیروی سس مایونز استفاده شده است (میرغفوری و رحیمی، 1395). اکثر هیدروکلوئیدها علاوه بر خاصیت امولسیفایری می‌توانند به عنوان پایدارکننده و قوام دهنده نیز عمل کنند. به عبارت دیگر، این مواد با افزایش گرانیروی و قوام فاز پیوسته، قادرند از شکستن امولسیون جلوگیری نمایند (میرغفوری و رحیمی، 1395).

1 و 2 - به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان).

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

DOI: 10.22067/iftstr.v16i1.75184

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

pH

مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره 2454 انجام شد.

اسیدیته

مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره 2454، انجام شد و طبق رابطه ذیل محاسبه گردید که در آن V و W به ترتیب حجم سود مصرفی (میلی‌لیتر) و وزن نمونه (گرم) هستند.

$$(1) \quad \text{اسیدیته} (\%) = (V \times 0.006 \times 100) / w$$

درصد چربی

مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره 2454، به روش سوکسله و توسط هگزان روغن نمونه استخراج شد.

پایداری فیزیکی امولسیون سس مایونز

جهت انجام آزمون پایداری فیزیکی امولسیون، در ابتدا حجم مشخصی از نمونه‌های سس مایونز به مدت 30 دقیقه در 5000 دور در دقیقه، سانتریفوژ (BHQ، 502، آلمان) شدند و با توجه به حجم امولسیون باقیمانده و استفاده از رابطه ذیل محاسبه گردید (Sciarini et al., 2009).

(2) $100 \times (\text{کل حجم} / \text{حجم امولسیون باقی‌مانده}) = \text{پایداری فیزیکی امولسیون}$

پایداری حرارتی امولسیون سس مایونز

برای تعیین ثبات سس مایونز در برابر حرارت، ابتدا نمونه‌ها به مدت 30 دقیقه در حمام آب با دمای 80 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس به مدت 30 دقیقه در 5000 دور در دقیقه، سانتریفوژ شدند. ثبات سس مایونز در برابر حرارت با استفاده از رابطه ذیل تعیین شد (Sciarini et al., 2009).

(3) $100 \times (\text{حجم امولسیون اولیه} / \text{حجم امولسیون نهایی}) = \text{پایداری حرارتی امولسیون}$

ویژگی‌های بافتی سس مایونز

ویژگی‌های بافتی سس مایونز با انجام تست بک اکستروژن با دستگاه ارزیابی بافت (LFRA، 4500) انجام شد و پارامترهای سفتی، چسبندگی، مدول ظاهری، نیروی مورد نیاز برای فشردن محاسبه گردید. پروپ با قطر 50 میلی‌متر، میزان نفوذ پروپ 20 میلی‌متر و سرعت نفوذ 1 میلی‌متر بر ثانیه به کار گرفته شد. استوانه شیشه‌ای با قطر داخلی 56 میلی‌متر و ارتفاع 95 میلی‌متر برای این تست انتخاب شد که حدود 200 گرم نمونه جهت انجام تست، توزین و در استوانه

بالا ترین میزان سختی، انسجام و چسبندگی مربوط به نمونه حاوی 75 درصد صمغ فارسی - 25 درصد کربوکسی‌متیل سلولز بوده‌است. آزمون‌های رئولوژی نیز نشان‌دهنده رفتار سودوپلاستیک تمام نمونه‌ها در سرعت برشی 1-450 بر ثانیه و رفتار ژل مانند ضعیف در محدوده فرکانس 10-0/1 هرتز بوده است. در این تحقیق اثرات جایگزینی 20، 35 و 50 درصد پنیر توفو جایگزین روغن و همچنین 2/5، 3 و 3/5 درصد صمغ، بر برخی ویژگی‌های کاربردی سس مایونز با هدف کاهش میزان چربی در فرمولاسیون بررسی شدند.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در فرمولاسیون سس مایونز در این تحقیق: روغن (10، 25 و 40 درصد) از شرکت روغن نباتی ناز، صمغ فارسی (2/5، 3 و 3/5 درصد) از عطاری فروش گیاهان دارویی در استان اصفهان، سرکه (7 درصد) (ژی‌تاک، ایران)، شکر (4/5 درصد) (قند اصفهان، ایران)، خردل (0/7 درصد) (COR، کانادا)، پودر سیر (0/1 درصد) (وند آپادانا، ایران)، نشاسته جایگزین تخم‌مرغ (0/8 درصد) (KMC، دانمارک)، پودر زرده تخم‌مرغ (0/5 درصد) (Pulviver، چین)، بنزوات سدیم (0/05 درصد) (وند آپادانا، ایران)، سوربات سدیم (0/05 درصد) (وند آپادانا، ایران)، پنیر توفو (20، 35، 50 درصد) (فرآورده‌های لبنی مطبق گنبد، دنیا، ایران) (به عنوان جایگزین روغن) و آب بود. در این تحقیق مجموع روغن و پنیر توفو 60 در نظر گرفته شد. مقدار روغن نمونه شاهد نیز 60 درصد و صمغ مورد استفاده، گزانتان (KMC، دانمارک) بود.

تهیه سس مایونز

سویا پنیر در اثر منعقد شدن پروتئین سویا شیر، توسط یک عامل منعقدکننده تولید می‌شود. ویژگی‌های شیمیایی پنیر توفوی استفاده شده بدین شرح است: رطوبت 68/6 درصد، چربی 5 درصد و پروتئین 13/8 درصد.

ابتدا پنیر توفو را که به‌خوبی مخلوط، یکنواخت و وزن شد، سپس به داخل مخلوط‌کن منتقل شد. شکر، خردل، پودر سیر، پودر زرده تخم‌مرغ، بنزوات سدیم، سوربات پتاسیم و آب را به آن اضافه و خوب مخلوط کرده و بعد صمغ فارسی را داخل یک چهارم روغن حل کرده و به مواد اضافه شد و به مدت 1 دقیقه با دستگاه هموژنایزر (IKA، Ultra-Turrax-T25 digital، آلمان) هم‌زده شد بعد بقیه روغن را اضافه و به مدت 1 دقیقه با همان شرایط هم‌زده شد و در آخر سرکه را اضافه و به مدت 2 دقیقه با دستگاه هموژنایزر هم‌زده شد. در نهایت، مایونز تولیدی در ظرف‌های مورد نظر ریخته و تا زمان انجام آزمون در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

ریخته شد. تمامی نمونه‌ها قبل از انجام آزمون در دمای 5 درجه سانتی‌گراد (دمای یخچال) قرار داده شدند. اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار و 24 ساعت بعد از تولید نمونه‌ها صورت گرفت (قنبرزاده، 1388).

جدول 1- درصدهای روغن، توفو و صمغ فارسی در تیمارها و نمونه شاهد

تیمار	روغن (%)	توفو (%)	صمغ فارسی (%)
شاهد (B)	60	0	0
20-2/5	40	20	2/5
35-2/5	25	35	2/5
50-2/5	10	50	2/5
20-3	40	20	3
35-3	25	35	3
50-3	10	50	3
20-3/5	40	20	3/5
35-3/5	25	35	3/5
50-3/5	10	50	3/5

τ تنش برشی (pa)، γ سرعت برشی (s^{-1})، K ضریب قوام ($pa.s^n$)، n ضریب رفتار جریان (بدون بعد) هستند (امیدبخش و همکاران، 1392).

رویش کرنش

این آزمون کاربردهای زیادی در اندازه‌گیری خواص ویسکوالاستیک مواد غذایی دارد. آزمون‌های ویسکوالاستیک زمانی قابل تفسیر است که در محدوده ویسکوالاستیک خطی انجام شوند. پس تعیین مقدار کرنش یا تنشی که کمتر از آن، رفتار ماده خطی است مهم خواهد بود (امیدبخش و همکاران، 1392).

رویش فرکانس

مقادیر مدول‌های ذخیره الاستیک (G') و مدول افت (G'') با استفاده از قانون توان به ترتیب با معادلات زیر بیان می‌گردد:

$$G' = k' \cdot \omega^n \quad (5)$$

$$G'' = k'' \cdot \omega^n \quad (6)$$

G' مدول ذخیره (پاسکال)، G'' مدول افت (پاسکال)، ω فرکانس زاویه‌ای (راد بر ثانیه)، k' ، k'' ، n' و n'' ضرایب ثابتی که با استفاده از داده‌های تجربی تعیین می‌شوند (امیدبخش و همکاران، 1392).

ارزیابی حسی نمونه‌های سس مایونز

این آزمون به روش هدونیک و اندازه‌گیری فاکتورهایی مثل ظاهر، رنگ، بو، طعم و مزه، بافت و پذیرش کلی انجام شد. آزمون در مقیاس امتیازدهی 1 تا 5 (عدد کوچکتر نشان‌دهنده نامطلوب بودن و

میانگین و توزیع اندازه ذرات روغن نمونه‌های سس مایونز از میانگین و توزیع اندازه ذرات نمونه‌های سس مایونز با استفاده از دستگاه پراکندگی نور دینامیکی (DLS) برای مطالعه اندازه ذرات نانو مجهز به پرتو لیزر (657 نانومتر) انجام گردید. این آزمون در دمای اتاق (25 درجه سانتی‌گراد) انجام شد. به‌منظور جلوگیری از توده‌ای شدن ذرات، نمونه‌ها قبل از تزریق به دستگاه به میزان 1:100 با آب مقطر رقیق و بعد از همگن شدن به دستگاه تزریق شدند. شاخص‌هایی مثل میانگین اندازه ذرات، مد و D_{50} ذرات امولسیون روغن اندازه‌گیری شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها در یک تکرار و 24 ساعت بعد از آماده‌سازی نمونه‌ها انجام گرفت (Moelants *et al.*, 2013).

رفتار رئولوژیکی نمونه‌های سس مایونز

بررسی رفتار رئولوژیکی سس‌های مایونز توسط دستگاه رئومتر بررسی رفتار رئولوژیکی سس‌های مایونز توسط دستگاه رئومتر (Rheoplus MCR 301) انجام گرفت. تمامی آزمون‌ها در دمای 25 درجه سانتی‌گراد و بعد از همگن کردن نمونه انجام شد (امیدبخش و همکاران، 1392).

آزمون رفتار جریان

نوع پروب دستگاه رئومتر مورد استفاده (PP50-SN51882) با قطر 1 میلی‌متر بود و تحت سرعت برشی 0/01 تا 1000 (بر ثانیه) و حدود استرین (گشتاوری) از 0/01 تا 100 درصد انجام شد. رفتار جریانی (تنش برشی/ سرعت برشی) در معادله قانون توان بیان می‌گردد:

$$\tau = \eta \dot{\gamma} K \quad (4)$$

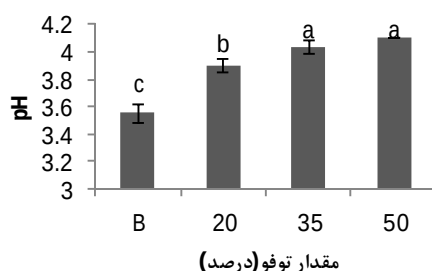
نتایج و بحث pH و اسیدیته

نتایج حاصل نشان داد اثر اصلی توفو بر pH معنی‌دار بود ($p < 0/05$) و با افزایش مقدار توفو، pH افزایش یافت (شکل 1). اثر اصلی صمغ و اثر متقابل صمغ و توفو معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). اثر اصلی توفو و صمغ و اثر متقابل صمغ و توفو بر اسیدیته معنی‌دار بود ($p < 0/05$). با افزایش مقدار توفو اسیدیته افزایش (شکل 2) و با افزایش مقدار صمغ کاهش یافت (شکل 3).

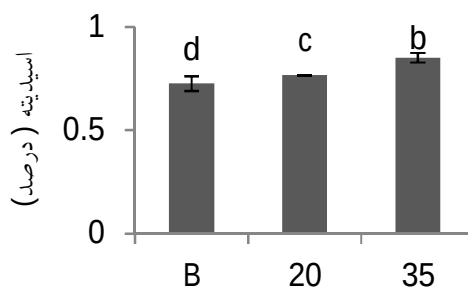
عدد بزرگتر نشان‌دهنده مطلوب بودن محصول است) و توسط 20 نفر ارزیاب آموزش دیده انجام شد (مصباحی و همکاران، 1388).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

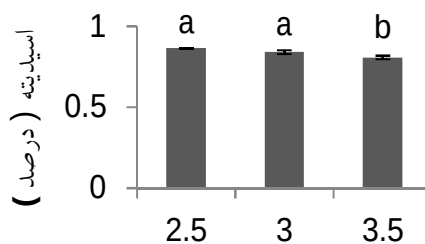
تجزیه و تحلیل آماری نتایج آزمون‌های pH، اسیدیته، چربی، بافت‌سنجی و حسی توسط نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون مقایسه میانگین با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال 5 درصد انجام گرفت. از طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل برای تجزیه داده‌ها در سه تکرار استفاده شد.



شکل 1- اثر توفو در pH سس مایونز



شکل 2- اثر توفو در اسیدیته سس مایونز



شکل 3- اثر صمغ در اسیدیته سس مایونز

افزایش پیدا کرد (اصلان‌زاده و همکاران، 1391). صمغ فارسی ماهیت خنثی دارد پس بر pH بی‌تاثیر است (معینی فیض‌آبادی و همکاران، 1391). pH تمام نمونه‌ها در محدوده مناسب استاندارد ملی ایران، شماره 2454 قرار داشت. افزایش درصد صمغ تاثیری در اسیدیته

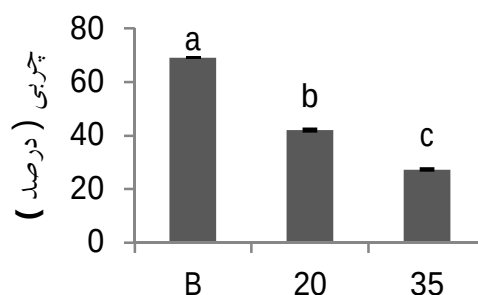
با افزایش پنیر توفو غلظت یون هیدروژن، به علت اثر pH پنیر توفو (pH=7) یا افزایش فاز آبی، کاهش می‌یابد. پنیر توفو حاوی اسید است اما این مقدار اسید بسیار اندک بوده و چون pH آن بالاست و مقدار سرکه اضافه شده ثابت بود. بنابراین میانگین pH سس مایونز

توفو درصد چربی پنیر توفو کم و درصد پروتئین آن زیاد است. اثر اصلی صمغ و اثر متقابل صمغ و توفو معنی‌دار نبود ($p>0/05$) زیرا ساختمان صمغ فارسی از ساکاریدها تشکیل شده است (رحیمی و عباسی، 1392). چربی تمام نمونه‌ها در محدوده مناسب استاندارد ملی ایران (شماره 2454) قرار داشت.

نداشت. با افزایش توفو اسیدیته مقداری افزایش یافت زیرا توفو به خاطر دارا بودن مقادیر بالای پروتئین و اسیدآمینه‌ی زیاد حالت بافتری دارد (Min et al., 2005).

چربی

نتایج نشان داد اثر اصلی توفو معنی‌دار ($p<0/05$) و با افزایش مقدار توفو درصد چربی کاهش (شکل 4) یافت زیرا طبق آنالیز پنیر



شکل 4- اثر توفو در چربی سس مایونز

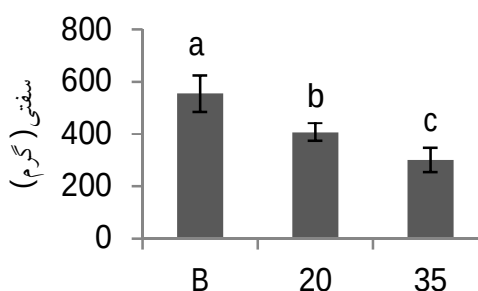
ساختمانی مولکول‌ها و افزایش آزادی و تحرک مولکول‌ها و جاری شدن آن‌ها و در نتیجه کاهش ویسکوزیته می‌گردد. همچنین افزایش دما با تسریع هیدرولیز اسیدی پلی ساکاریدها موجب کاهش ویسکوزیته می‌شود (Ven et al., 2007).

پایداری فیزیکی و حرارتی امولسیون سس مایونز

هیچگونه دو فاز شدن در نمونه‌ها مشاهده نشد که به دلیل ساختار قوی امولسیون است (نیک‌نیا و همکاران، 1390). در محصولات کم‌چرب، افزودن یک عامل غلیظ‌کننده باعث کاهش حرکت قطرات امولسیون شده و از پدیده خامه‌ای شدن جلوگیری می‌کند (میرغفوری و رحیمی، 1395). با افزایش مقدار صمغ و خاصیت جذب آب، ساختار ژل مانند ایجاد می‌شود که باعث پایداری و جلوگیری از سینرسیس می‌شود. پروتئین موجود در سویا می‌تواند به‌عنوان یک امولسیفایر در ترکیب فراورده‌های سالاد به‌کار رود. در سس مایونز، واکنش پروتئین - صمغ نقش مهم در پایداری امولسیون دارد (میرغفوری و رحیمی، 1395). افزایش دما منجر به شکستن

ویژگی‌های بافتی سس مایونز

نتایج نشان داد اثر اصلی توفو و صمغ بر ویژگی‌های بافتی معنی‌دار ($p<0/05$) و اثر متقابل صمغ و توفو معنی‌دار نبود ($p>0/05$). افزایش توفو تا 35 درصد سبب کاهش ویژگی‌های بافتی (سفتی، چسبندگی، نیروی چسبندگی، کار لازم برای فشردن، مدول ظاهری) شد اما افزایش بیشتر تاثیری نداشت (شکل 5).



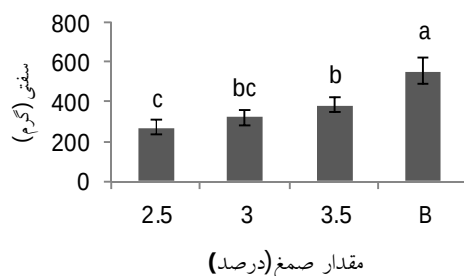
شکل 5- اثر توفو در سفتی سس مایونز

(Liu et al., 2007). با افزایش پنیر توفو فاز آبی افزایش و ویژگی‌های بافتی کاهش می‌یابد (رنگ‌ریز و همکاران، 1392). افزودن صمغ به

با افزایش درصد صمغ ویژگی‌های بافتی افزایش یافت (شکل 6). ویسکوزیته یک امولسیون بر ویژگی‌های بافتی اثر می‌گذارد (al.,

کوچک‌تر در امولسیون و کاهش الاستیسیته، نسبت به نمونه فاقد صمغ می‌شود (Raymundoa et al., 2002).

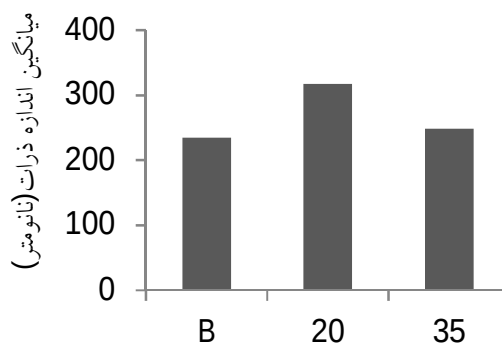
نمونه مایونز سبب تشکیل ساختار ژل‌مانند قوی در فاز پیوسته، القاء ساختار سخت‌تر و پیچیده‌تر، تأثیر در تشکیل قطرات روغن با قطر



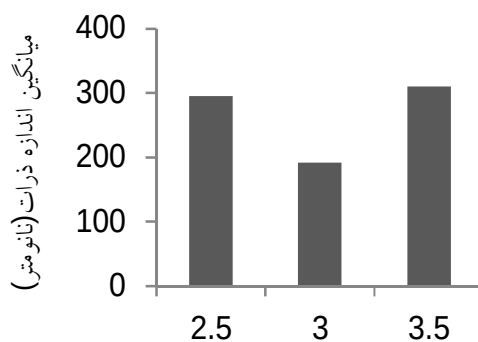
شکل 6- اثر صمغ در سفتی سس مایونز

(1395). پس با افزایش درصد توفو، درصد چربی کاهش پیدا کرده و ویژگی اندازه ذرات نیز کاهش یافت (Wendin et al., 1997). در ساختار صمغ فارسی شاخه‌های نامحلول وجود دارد و حلالیت این شاخه‌ها پایین است بنابراین ذرات بزرگتر در امولسیون مشاهده شد و درصد پایین صمغ به امولسیفایر کمک کرده و منجر به کوچک شدن قطر ذرات می‌شود و با افزایش درصد صمغ ویسکوزیته افزایش یافته و از کوچک شدن ذرات جلوگیری می‌کند (یوسفی و همکاران، 1390).

میانگین و توزیع اندازه ذرات روغن نمونه‌های سس مایونز
نتایج نشان داد میانگین اندازه ذرات، D_{50} و مد با افزایش مقدار توفو کاهش و با افزودن صمغ تا 3 درصد کاهش و سپس افزایش یافت (شکل 7 و 8). با افزایش مقدار چربی اندازه ذرات افزایش پیدا می‌کند (Wendin et al., 1997). به‌طور کلی ترکیبات امولسیفایری با وزن مولکولی کمتر، ذرات روغن با اندازه کوچکتر را در امولسیون ایجاد می‌کنند (رحمتی و همکاران، 1392). مقدار مورد نیاز امولسیفایر با کاهش اندازه ذرات امولسیون شده سریعاً افزایش میابد (فاطمی،

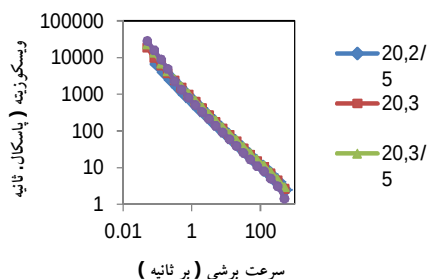


شکل 7- اثر توفو در میانگین اندازه ذرات در مایونز



شکل 8- اثر صمغ در میانگین اندازه ذرات در مایونز

برشی ثابت، مقدار ویسکوزیته افزایش پیدا کرد که علت آن تشکیل شبکه و ساختار قوی‌تر در حضور غلظت بالاتر صمغ است (عالمزاده و همکاران، 1389). با توجه به شکل 9 ویسکوزیته نمونه 3-20 به ویسکوزیته شاهد نزدیک‌تر بود. جهت مقایسه بهتر ویسکوزیته تمامی نمونه‌ها، در جدول 2 ویسکوزیته آنها در سرعت‌های برشی 0/1، 1، 10، 100 بر ثانیه گزارش شد.



شکل 9- تغییرات ویسکوزیته-فرکانس نمونه‌های سس مایونز حاوی 2/5، 3 و 3/5 درصد صمغ و 20 درصد توفو و مقایسه آن با نمونه شاهد

جدول 2- ویسکوزیته (پاسکال ثانیه) سس‌های مایونز تولیدی در چندین سرعت برشی متفاوت

نام تیمار	سرعت برشی (S^{-1})			
	0/1	1	10	100
2/5-50	2130	164	20/9	3/03
3-50	3730	291	36/8	5/2
3/5-50	6650	428	53/1	7/3
2/5-35	4120	337	39/2	5/2
3-35	5710	422	49/2	6/41
3/5-35	5880	558	70/4	9/76
2/5-20	6600	633	75/4	9/77
3-20	6040	629	77/6	10/4
3/5-20	6870	677	84/7	11/3
B	8870	504	58/9	7/94

هم افزایش ویسکوزیته با کاهش مقدار توفو را در یک فرکانس مشخص نشان داد که علت آن رطوبت بالای پنیر می‌تواند باشد که رفتار سس مایونز را به رفتار غیرنیوتونی نزدیک می‌کند (رحمتی و همکاران، 1392). با افزایش توفو روغن جهت تشکیل امولسیون پایدار کاهش‌یافته و متعاقب آن ویسکوزیته کاهش می‌یابد (نیک‌زاده و همکاران، 2012). مقادیر پارامترهای رئولوژیکی سس‌های مایونز تولیدی مطابق قانون توان در جدول 3 نشان داده شده است. میزان

رفتار رئولوژیکی نمونه‌های سس مایونز

آزمون رفتار جریان

با افزایش مقدار توفو در یک سرعت برشی ثابت ویسکوزیته کاهش یافت علت آن رطوبت بالای پنیر می‌تواند باشد که رفتار سس مایونز را به رفتار غیرنیوتونی نزدیک می‌کند (رحمتی و همکاران، 1392). همچنین با افزایش پنیر توفو مقدار روغن جهت تشکیل امولسیون پایدار کاهش‌یافته و متعاقب آن ویسکوزیته کاهش می‌یابد (نیک‌زاده و همکاران، 2012). با افزایش مقدار صمغ در یک سرعت

نتایج نشان داد که در تمامی نمونه‌ها با افزایش فرکانس، ویسکوزیته کاهش می‌یابد. این امر می‌تواند ناشی از باز شدن پیوندها و جهت یافتگی واحدهای ساختاری باشد (عالمزاده و همکاران، 1389).

مقایسه ویسکوزیته در یک فرکانس خاص نشان داد که به‌طور کلی اضافه کردن صمغ باعث افزایش ویسکوزیته نمونه‌ها در مقایسه با نمونه شاهد شد. مقایسه نمونه‌های دارای درصدهای متفاوت توفو

قوام در تمامی نمونه‌ها با کاهش توفو افزایش یافت. در خصوص ضریب رفتار جریان روند مشخصی مشاهده نشد. بنابراین چون ضریب رفتار جریان کمتر از 1 است نمونه‌ها غیرنیوتونی یا سودوپلاستیک هستند.

ضریب قوام در تمامی نمونه‌ها با اضافه کردن صمغ افزایش یافت که دلیل آن بالا رفتن تعداد مولکول‌های با وزن مولکولی بالا در فاز مایع می‌باشد که سبب افزایش مقاومت در برابر جریان و افزایش ضریب قوام می‌شود (معینی فیض‌آبادی و همکاران، 1391). میزان ضریب

جدول 3- مقادیر پارامترهای رئولوژیکی سس‌های مایونز تولیدی با قانون توان

نام تیمار	K (pa.s)	n	R ²
50-2/5	261	0/964	0/9899
50-3	457	0/959	0/9927
50-3/5	706	0/981	0/9931
35-2/5	479	0/961	0/9982
35-3	632	0/98	0/9975
35-3/5	790	0/929	0/9979
20-2/5	708	0/906	0/9994
20-3	854	0/931	0/9987
20-3/5	965	0/94	0/9975
B	849	1/016	0/9938

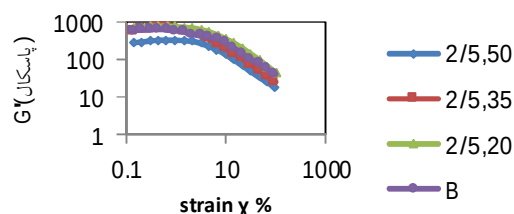
رویش کرنش

عددی نقطه تلاقی مدول الاستیک و ویسکوز افزایش و با افزایش درصد توفو نقطه تلاقی کاهش پیدا کرد. افزایش غلظت صمغ اصولاً موجب سخت شدن ساختار می‌شود که ناشی از افزایش قدرت‌های موجود بین واحدهای ساختار می‌باشد (عالمزاده و همکاران، 1389).

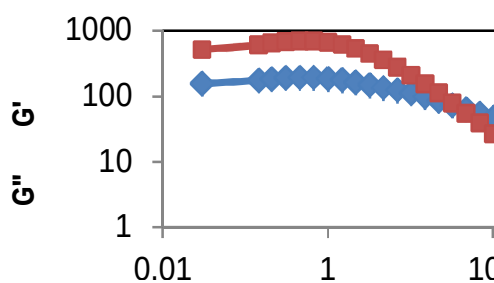
این آزمون در محدوده کرنش 0/1 - 1000 درصد و فرکانس ثابت 1 هرتز انجام شد. در جدول 4 محدوده ویسکوالاستیک خطی و تنش برشی متناظر با آخرین سرعت برشی در محدوده خطی گزارش شده است. در شکل 11 با اضافه کردن صمغ و افزایش غلظت آن، مقدار

جدول 4- محدوده ویسکوالاستیک خطی و تنش برشی متناظر نمونه‌های مایونز

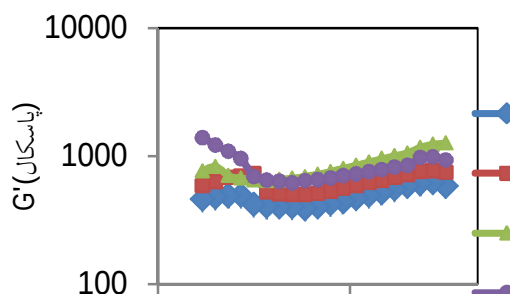
تیمار	کرنش (%)	تنش برشی متناظر (Pa)	محدوده ویسکوالاستیک نقطه تلاقی مدول	
			الاستیک ویسکوز	خطی
			G'=G'' (Pa)	کرنش متناظر (%)
50-2/5	1/1	5/13	60	23/1
50-3	1	5/59	70	31
50-3/5	0/7	6/18	110	31
35-2/5	0/7	4/87	70	31
35-3	0/7	4/57	61	31
35-3/5	1	7/76	91	31
20-2/5	1/2	15/9	120	31
20-3	1	11/3	110	31
20-3/5	1/2	10/7	120	31
B	0/7	26/3	110	22



شکل 10- نمودار نوسانی بر حسب G' به کرنش برای نمونه‌های مایونز با درصد صمغ 2/5 و در درصد توفوهای 50، 35، 20 و شاهد (G'): مدول الاستیک)



شکل 11- نمودار نوسانی بر حسب G'' و G' به کرنش برای نمونه مایونز دارای 2/5 درصد صمغ و 35 درصد توفو به منظور تعیین تلاقی مدول الاستیک و ویسکوز و کرنش معادل (G' : مدول الاستیک، G'' : مدول ویسکوز)



شکل 12- نمودار نوسانی نمونه‌های مایونز تولیدی با درصد توفو 35 و درصد صمغ 2/5 و 3 و 3/5 و نمونه شاهد (G')

مدول کمپلکس (G^*)، سفتی کلی است که برای محاسبه آن از این پارامتر استفاده می‌شود:

$$G^* = \sqrt{G'^2 + G''^2} \quad (8)$$

مقادیر مدول الاستیک، ویسکوز و کمپلکس، در دو فرکانس 1/26 و 12/6 هرترز محاسبه شده است (جدول 5). Mancini و همکاران (2002) اعلام کردند نمونه‌های مایونز در محدوده فرکانس 0/1 تا 10 Hz ویژگی ژل‌های ضعیف را از خود نشان می‌دهند. Barbosa-canovas و همکاران (1995) گزارش کردند که در امولسیون‌هایی با مقادیر بالای روغن مقدار G' بالاتر است و در

رویش فرکانس

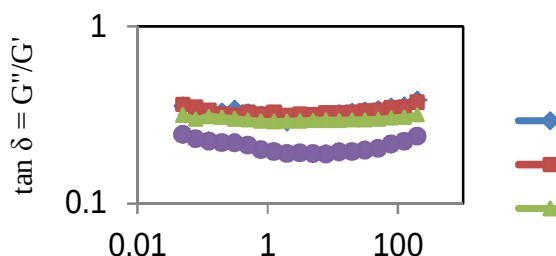
آزمون روبش فرکانس در محدوده فرکانس 500-0/5 هرترز و با اعمال کرنش 1 درصد در محدوده خطی ویسکوالاستیک انجام شد. نمونه‌ای از نمودار نوسانی سس‌های مایونز تولیدی در شکل 12 نشان داده شده است. نسبت G' به G'' تانژانت افت نامیده می‌شود:

$$\tan \delta = G''/G' \quad (7)$$

نمونه‌ای از تانژانت افت در شکل 13 رسم شده است.

از همه کمتر و در رنج 0/1 تا 0/3 بود. هرچه درصد صمغ بیشتر شد، نمونه‌ها تانژانت افت کمتری را نشان دادند پس نمونه‌های دارای صمغ کمتر و توفوی بیشتر تانژانت افت بالاتر و نمونه‌ها گرایش به رفتار شبه‌مایع داشتند که این ممکن است به دلیل آب بالای موجود در پنیر توفو باشد (رنگ‌ریز و همکاران، 1393). اما نمونه شاهد از همه رفتار ویسکوالاستیک جامد بیشتری داشت و افزایش غلظت صمغ اصولاً قدرت ساختار را زیاد کرده و موجب سخت شدن ساختار می‌شود این سخت شدن ناشی از افزایش قدرت پیوندهای موجود بین واحدهای ساختار می‌باشد. بنابراین با افزایش غلظت صمغ اصولاً قدرت ساختار زیاد شده ولی نوع ساختار از ژل به حالت ژل‌مانند تغییر می‌کند (عالمزاده و همکاران، 1389).

این حالت میزان انرژی قابل بازیافت نمونه بیشتر می‌شود. در این پژوهش علی‌رغم کاهش مقادیر بالای روغن در مقایسه با مایونز پرچرب مقدار G' بیشتر از G'' بود که بیانگر مناسب بودن پنیر توفو به‌عنوان جایگزین چربی در فرمولاسیون سس مایونز می‌باشد (رنگ‌ریز و همکاران، 1393). تانژانت افت نیز بررسی شد. زمانی که تانژانت افت بزرگتر از 1 باشد ماده ویسکوز مایع است و در صورتی که کمتر از 1 باشد ماده ویسکوالاستیک جامد (شبهه ژل) است هرچقدر ماده رفتار شبه مایع بیشتری نسبت به رفتار جامد داشته باشد، تانژانت افت بالاتری را نشان می‌دهد. مقادیر تانژانت افت برای مایعات رقیق عددی بسیار بالا و برای جامدات آمورف در حدود 0/3 - 0/2 و پلیمرهای بلوری و ژل‌ها نزدیک به 0/01 است (قنبرزاده، 1388). تمام نمونه‌ها تانژانت افت کمتر از 1 داشتند و تانژانت افت نمونه شاهد



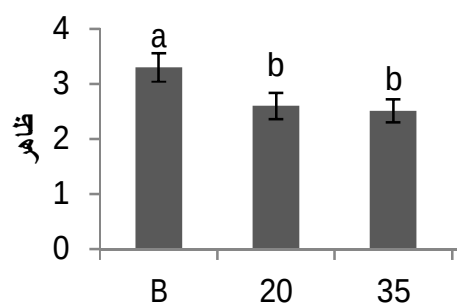
شکل 13- نمودار نوسانی بر حسب $\tan \delta$ به فرکانس برای نمونه‌های سس مایونز دارای 3/5 و 3/2 درصد صمغ و درصد توفو 35 و نمونه شاهد (G' : مدول الاستیک، G'' : مدول ویسکوز)

جدول 5- G' مدول ذخیره، G'' مدول افت و G^* مدول کمپلکس نمونه‌های سس مایونز						
تیمار	(Pa) G'	(Pa) G''	(Pa) G^*	(Pa) G'	(Pa) G''	(Pa) G^*
2/5-50	194	69	205	264	92/3	262
3-50	346	118	365	437	154	463
3/5-50	511	168	537	633	209	666
2/5-35	404	125	422	469	151	492
3-35	504	165	530	588	191	618
3/5-35	673	196	700	848	250	884
2/5-20	659	144	674	834	192	855
3-20	772	169	790	950	214	973
3/5-20	828	192	849	1040	241	1067
B	617	143	633	727	142	740

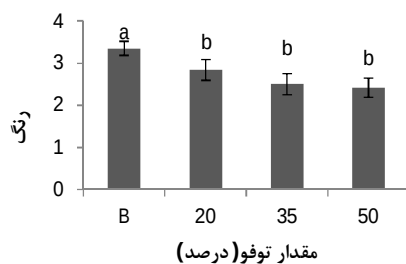
کلی) معنی‌دار ($p < 0/05$) و اثر اصلی صمغ و اثر متقابل صمغ و توفو بر آن معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). با افزایش توفو ویژگی‌های حسی کاهش پیدا کرد.

ارزیابی حسی نمونه‌های سس مایونز

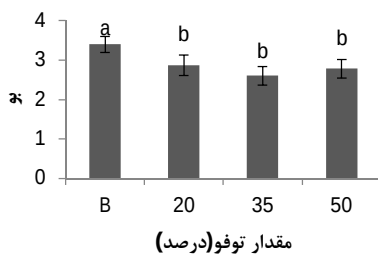
نتایج حاصل از آنالیز آماری نمونه‌ها نشان داد اثر اصلی توفو بر ویژگی‌های حسی (مثل ظاهر، رنگ، بو، طعم و مزه، بافت و پذیرش



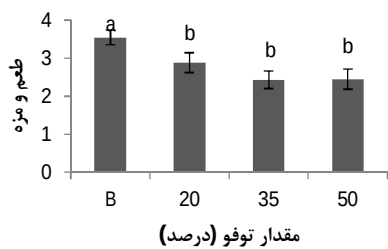
شکل 14- اثر توفو در ظاهر در سس مایونز



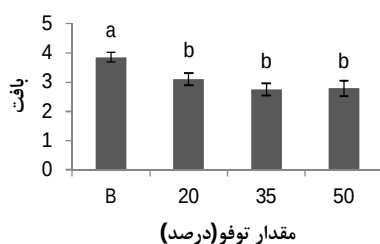
شکل 15- اثر توفو در رنگ در سس مایونز



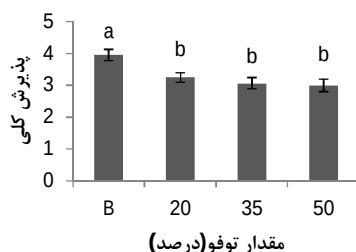
شکل 16- اثر توفو در بو در سس مایونز



شکل 17- اثر توفو در طعم و مزه در سس مایونز



شکل 18- اثر توفو در بافت در سس مایونز



شکل 19- اثر توفو در پذیرش کلی در مایونز

نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش می توان گفت افزودن صمغ فارسی در سس مایونز بر محتوای چربی، اسیدیته و pH تأثیری ندارد و همچنین افزودن پتیر توفو در مقدار کم تغییرات محسوسی ایجاد نمی کند رفتار سس مایونز، سودوپلاستیک و غیرنیوتونی بود و با در نظر گرفتن نتایج آزمون های مختلف فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی، بافت سنجی، پارتیکل سائز و حسی نمونه های سس مایونز در این پژوهش نمونه های با 20 درصد توفو و 3/5 درصد صمغ فارسی به عنوان نمونه برتر شناخته شد که خواص آن

به سس مایونز پرچرب نزدیک تر بود و می توان آن را تحت عنوان مایونز با چربی کاهش یافته معرفی کرد. همچنین افزودن پنیر توفو با توجه به خواص سرشار و کالری بسیار پایین برای سلامتی بسیار مفید است.

افزودن صمغ فارسی در فرمولاسیون سس مایونز مناسب بوده و در صورتی که خلوص آن بالا باشد کیفیت سس بهتر خواهد شد همچنین خواص دارویی بسیار زیاد صمغ فارسی همراه با پنیر توفو در سس مایونز آن را به منبع غنی و بسیار مناسب تبدیل می کند.

منابع

- اسپرن، و، قنبرزاده، ب. و حسینی، س. ا.، 1390، مطالعه اثر هیدروکلوئید کاراگینان و منعقدکننده های گلوکونولتاناکتون و کلرید کلسیم بر ویژگی های رئولوژیکی، فیزیکی و حسی پنیر سویا (تافو)، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، شماره 1، صفحات 81-90.
- اصلان زاده، م، میزانی، م، گرامی، ع. و علیمی، م، 1391، بررسی عملکرد فیبر رژیمی تولیدی از سبوس گندم به عنوان جایگزین چربی در سس مایونز، مجله تکنولوژی غذا و تغذیه، جلد 11، شماره 1.
- امید بخش، ا، نایب زاده، ک، محمدی فر، م. ا. و امیری، ز.، 1392، بررسی اثر توام نشاسته اصلاح شده و صمغ زانتان بر ویژگی های پایداری، حسی و رئولوژیکی سس گوجه فرنگی، مجله علوم و تغذیه صنایع غذایی ایران، صفحات 299-300.
- برزگری، م، رفتنی امیری، ز، محمدزاده میلانی، ج. و معتمدزادگان، ع.، 1392، بررسی تاثیر جایگزینی کربوکسی متیل سلولز با صمغ فارسی بر خواص کیفی سس مایونز، نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، جلد 2، شماره 4، صفحات 381-392.

- رحمتی، ن. ف.، مظاهری تهرانی، م. و دانشور، ک.، 1392، بررسی تاثیر جایگزینی تخم مرغ با شیر سویا بر خصوصیات رئولوژیکی و بافتی سس مایونز، نشریه پژوهش های صنایع غذایی، جلد 23 شماره 2.
- رحیمی، س. و عباسی، س.، 1392، تعیین برخی ویژگی های فیزیکوشیمیایی و ژل شوندگی صمغ فارسی، فصلنامه علوم و فناوری های نوین غذایی، شماره 4، صفحه 13-27.
- رنگ ریز، ا.، مرتضوی، س. ع.، خمیری، م. و امیری عقدایی، س. س.، 1393، ویژگی های فیزیکوشیمیایی، بافتی، حسی و رئولوژیکی سس مایونز کم کالری بر پایه لبنیات، نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد 12، شماره 1، صفحات 34-48.
- عالمزاده، ط.، محمدی فر، م. ا.، عزیزی، م. ح. و قناتی، ک.، 1389، تاثیر دو گونه صمغ کنیرای ایرانی (اصفهان و اسفراین) بر ویژگی های رئولوژیک سس مایونز، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، 7: 141-127.
- عباسی، س. و رحیمی، س.، 1387، معرفی یک نوع صمغ گیاهی بومی ناشناخته: صمغ زدو، نشریه آرد و غذا، سال 4، شماره 13، صفحات 46-50.
- فاطمی، ح.، 1395، شیمی مواد غذایی، شرکت سهامی انتشار، صفحات 50-55.
- قنبرزاده، ب.، 1388، مبانی رئولوژی مواد و بیوپلیمرهای غذایی، انتشارات دانشگاه تهران.
- مصباحی، غ.، عباسی، ا.، جمالیان، ج. و فرحناکی، ع.، 1388، افزودن پوست و دانه گوجه فرنگی به سس کچاپ به منظور بهبود ارزش غذایی و خصوصیات رئولوژیک آن، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، 13: 82-69.
- معینی فیض آبادی، ا.، کارازیان، ح. و مهدیان، ا.، 1391، ویژگی های رئولوژیکی و بافتی سس مایونز حاوی صمغ دانه شاهی، مجله ی نوآوری در علوم و فناوری غذایی، شماره ی سوم.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1393، مایونز و سس های سالاد-ویژگی ها و روشهای آزمون، استاندارد شماره 2454.
- میرغفوری، س. و رحیمی، س.، 1395، ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی، امولسیون و رئولوژیکی سس مایونز حاوی شیر سویا و ژل آلوته ورا، فصلنامه فناوری های نوین غذایی، شماره 11.
- نیک نیا، س.، رضوی، م. ع.، کوچکی، آ.، نایب زاده، ک.، 1390، تأثیر کاربرد صمغ دانه ریحان و دانه مرو بر ویژگی های حسی و پایداری سس مایونز، مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی، جلد دوم شماره دوم، 61-79.
- یوسفی، ف.، عباسی، س. و عزت پناه، ح.، 1390، تأثیر میزان صمغ فارسی، روغن، پروتئین و پ هاش بر پایداری امولسیون تهیه شده با فراصوت، نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، جلد 1، شماره 3، صفحات 199-218.
- Barbosa, L., Canovas, G.V., 1995, Rheological characterization of mayonnaise, Part I: Slippage at different oil and xanthan gum concentrations, *Food Engineering*, 25:397-408.
- Derbyshire, E., Wright, D., Boulter, D., 1976, Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds, *Phytochemistry*, 15: 3-24.
- Liu, H., Xu, X.M., Guo, S.H.D., 2007, Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics, *Food Science Biotechnology*, 6: 946-954.
- Min, S., Marin, S.T., 2005, Effect of Soybean Varieties and Growing Locations on the Physical and Chemical Properties of Soymilk and Tofu Food Chemistry and Toxicology, Vol. 70, Nr, 1
- Moelants, K.R., Cardinaels, R., Jolite, R.P., Verrijssen, T.A., Buggenhout, S., Van, Loey, A.M., Moldenaers, P., Hendrickx, M.E., 2013, Relation between particle properties and rheological characteristics of carrot-derived suspensions. *Food and Bioprocess Technology*, 6:1127-1143.
- Nikzade, V., Mazaheri, Tehrani, M., Saadatmand-Tarzan, M., 2012, Optimization of low-cholesterol-low-fat mayonnaise formulation: Effect of using soy milk and some stabilizer by a mixture design approach, *Journal of Elsevier*, 28:344-352.
- Raymundoa, A., Francob, J. M., Empisc, J., Sousad, I., 2002, Optimization of the composition of cow-fat oil-in-water emulsions stabilized by white lupin protein, *Journal of the American Oil Chemists, Society*, 79(8): 283-290.
- Sciarini, L.S., Maldonado, F., Ribotta, P.D., Perez, G.T., and Leon, A.E., 2009, Chemical composition and functional properties of *Gleditsia triacanthos* gum, *Food Hydrocolloids*, 23, 306-313.
- Wendin, K., Aaby, K., Edris, A., Ellekjaer, M.R., Albin, R., Bergenstahl, B., Johansson, L., Willers, E.P., Solheim, I. R., 1997, Low-fat mayonnaise: influences of fat content, aroma compounds and thickeners, *Food Hydrocolloids*, Oxford University Press, Vol, 11 no, 1 pp, 87-99.
- Ven, C. V., Courvoisier, C., 2007, High pressure versus heat treatments for pasteurization and sterilization of model emulsions, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 232-236.

Effect of oil replacement with tofu and Persian gum on physicochemical, textural and rheological properties of Mayonnaise sauce

M. Mohammad Khani¹, M. Fazel^{2*}

Received: 2019.02.20

Accepted: 2019.05.15

Introduction: Increasing society's desire to consume healthy and low-calorie foods has led to the production of low-fat and healthy foods. In this study, the effect of oil replacement with tofu cheese and Persian gum on physicochemical, textural, rheological and sensory properties of Mayonnaise sauce as well as its particle size, were investigated. Tofu was replaced with fat at three concentration levels of 20, 35 and 50% and Persian gum was added to the sauce at three concentrations of 2.5, 3, and 3.5%. The control sample contained 60% fat and guzanthan gum. With increasing tofu, pH and acidity increased and with increasing Persian gum acidity decreased. With increasing tofu, histological test (hardness, adhesiveness, adhesive force, work done to hardness, apparent modulus) decreased and with increasing Persian gum, their increased. With increasing tofu, decreased particle size. With increasing gum until 3%, average of particle size decreased and with more increase of gum, average of particle size increased. The rheological behavior of all samples at a shear rate of 0.01 to 1000 (on second) showed that the viscosity decreased with increasing tofu decreased and with increasing gum, increased. In all samples, with increasing shear rate, the viscosity was decreased, and the behavior of the samples was pseudoplastic and the parameters followed the power law model. Sample with 20% tofu cheese and 3.5% Persian gum as top samples, whose properties are closer to fatty mayonnaise and can be called Mayonnaise with reduced fat.

Materials and methods: Physical and thermal stability tests of the emulsion were performed with a centrifuge machine. PH test was performed using pH meter and acidity test in terms of acetic acid percentages. The fat percentage was performed with a Soxhlet. The texture properties were performed by back extrusion test and the parameters of hardness, adhesiveness, adhesiveness force, apparent modulus and force required to squeeze were calculated. The particle size was measured using a dynamic light dispersion apparatus, and the average particle size, mod, and D_{50} of the emulsion particles of oil were investigated. The rheological behavior was performed by the rheometer and sensory evaluation was conducted by the hedonic method. Statistical analysis was performed by using SPSS software and the mean comparison test at 5% probability level and in the form of factorial test.

Results & Discussion: In the physical and thermal stability test of the emulsion, no two phases were observed in the samples. This could be due to the strong structure of the emulsion and the high viscosity of the continuous phase. By increasing the tofu value, the pH increased, which can be attributed to the decrease in the concentration of hydrogen ion or the increase of the aqueous phase. With increasing amount of gum, there is no change in pH, because the Persian gum has a neutral nature. Increasing the amount of gum did not affect acidity. As the tofu increased, acidity increased, and this increase was very slight, which can be attributed to buffering mode of tofu due to high amounts of high amino acids. By increasing the tofu percentage, the percentage of fat decreases because the percentage of fat in tofu cheese is low and its protein content is much. The increase in gum did not affect the amount of fat, because Persian gum structure was made up of saccharides. The tofu increase up to 35% reduced the texture properties, because the aqueous phase increased, with increasing gum percentage, texture properties increased because it produced a strong gel structure.

With the increase in tofu content, the particle size of the oil decreased, because with increasing the amount of fat, the particle size increased. By adding gum the particle size decreased to 3% and then increased, because in the Persian gum structure, there are insoluble branches and the solubility of these branches is low. In the evaluation of rheological behavior, flow behavior test was investigated; viscosity of all samples was reported at shear rates of 0.1, 1, 10, 100/ sec. In all samples, the viscosity decreases with increasing frequency. By increasing the gum at a constant shear rate, the viscosity increased, which can be explained by the fact that the formation of a stronger structure in the presence of higher concentrations of gum. By increasing the shear rate at a constant concentration of gum, the viscosity decreased, and the increase in gum with increasing shear rate also reduced the viscosity and sauce had profit and plastic behavior that could be due to the opening of the bonds. As the tofu percentage increased in all shear rates, viscosity decreased

1 and 2. MSc student and Assistant professor, Food science and technology department, Islamic Azad University Isfahan (Khorasgan) Branch Faculty of Agriculture.

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

and by increasing the tofu value at a constant shear rate, the viscosity decreased, and the increasing tofu with increasing shear rate reduced viscosity due to high moisture content of the cheese. The rheological parameters of mayonnaise sauce were checked in accordance with the power law. As the gum increased, the consistency coefficient increased, because the number of molecules with high molecular weight in the liquid phase increased, with increasing the percentage of tofu cheese, the coefficient of consistency decreased. The flow behavior coefficient does not have a clear trend, and since it is less than 1, the samples are non-Newtonian. In the strain scan test in lower strains, mayonnaise always has linear viscoelastic behavior. By increasing the gum concentration, both the elastic and viscous components are transported to higher values, which can be due to more interaction between the Persian gum and the components of the emulsion. In the sensory evaluation of the samples, the addition of gum and tofu percentage was not effective.

With regarding the data of the tests, mayonnaise sample was identified with the replacement of 20% tofu cheese and 3.5% Persian gum as a superior sample, which its properties are closer to fatty mayonnaise and can be classified as Mayonnaise with low Fat. An extensive medicinal property of Persian gum with tofu cheese in mayonnaise sauce makes it a rich and very good source.

Key Words: Low-fat mayonnaise sauce, Tofu cheese, Persian gum, Elastic modulus, Viscose modulus

خواص فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی میوه توت‌فرنگی رقم پاروس (Paros Variety) در طبقات مختلف

فرهاد فاتحی¹ - اصغر محمودی² - عادل حسین پور³ - هادی صمیمی اخیحجانی⁴

تاریخ دریافت: 1397/12/15

تاریخ پذیرش: 1398/04/02

چکیده

به منظور طراحی و ساخت مکانیزم‌های پس از برداشت و جهت طبقه‌بندی محصولات کشاورزی، داشتن اطلاعات جامع در مورد برخی خصوصیات فیزیکی، مکانیکی، شیمیایی و ارتباط بین آن‌ها برای محصول ضروری می‌باشد تاکنون هیچ‌گونه بررسی در مورد ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی توت‌فرنگی رقم پاروس انجام نشده است. در این پژوهش، توت‌فرنگی رقم پاروس در شش طبقه با نظر فرد خبره بر اساس ویژگی‌های ظاهری از جمله رنگ و اندازه طبقه‌بندی شد. بر این اساس برخی از خواص فیزیکی و مکانیکی طبقات از جمله ابعاد هندسی، جرم، حجم، چگالی حقیقی و ظاهری، تخلخل، سفتی و نقطه تسلیم بیولوژیک و همچنین برخی خصوصیات شیمیایی آن‌ها از جمله اسید آسکوربیک، اسیدینه، مواد جامد محلول کل و شاخص طعم مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج نشان داد برای طبقات یک الی شش به ترتیب، مقادیر میانگین ارتفاع، 29/44، 36/63، 42/48، 26/47، 33/08 و 42/07 میلی‌متر؛ قطر، 16/93، 22/73، 26/66، 17/09 و 20/51 و 27/88 میلی‌متر؛ جرم، 4/925، 11/909، 21/779، 5/4710، 11/71، 21/437 گرم؛ حجم، 5/227، 12/377، 22/439، 6/357، 13/590 و 24/322 میلی‌متر مکعب؛ چگالی حقیقی، 942/367، 962/499، 970/166، 860/592، 861/623 و 881/513 گرم بر میلی‌متر مکعب؛ سفتی، 10/1، 7/8، 5/2، 28/2 و 13/7 و 11/5 نیوتن بر متر مربع؛ اسید آسکوربیک، 39/53، 44/06، 47/20، 7/25، 7/20 و 13/55 میلی‌گرم در صد گرم محصول و شاخص طعم، 16/3، 13/5، 12/6 و 3/6 و 3/8 بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: خواص فیزیکی و مکانیکی، سفتی، شاخص طعم و مزه، نقطه تسلیم بیولوژیک.

مقدمه

توت‌فرنگی یکی از میوه‌های دانه‌ریز و بومی مناطق معتدله است که طرفداران زیادی داشته و به همین دلیل روز به روز بر سطح زیر کشت آن در سراسر جهان و همچنین در ایران افزوده می‌شود. این میوه به دلیل وجود مقدار فراوانی از ویتامین ث، عناصر معدنی و سایر مواد مورد نیاز بدن اهمیت ویژه‌ای دارد. از میوه توت‌فرنگی علاوه بر مصرف به صورت تازه، در تهیه ژله، مربا، شکلات، مارمالاد، بستنی، ماست و شیرینی نیز استفاده می‌شود (Taghavi, 2005). ایران با داشتن بیش از 3600 هکتار سطح زیر کشت توت‌فرنگی، مقام بیستم را در بین کشورهای تولید کننده توت‌فرنگی داراست. متوسط عملکرد توت‌فرنگی در ایران برای هر هکتار 10 تن تخمین زده شده است، که نسبت به تولید در کشورهای اروپایی از رشد خوبی برخوردار است (FAO, 2013). بر اساس برآوردهای سازمان جهاد کشاورزی میزان تلفات توت‌فرنگی از زمان برداشت تا زمان ارائه به بازار 25 درصد کل محصول تولیدی است. نبود دانش و مهارت در مدیریت تولید، برداشت

محصول، خنک‌کاری، حمل و نقل، بازاریابی، تجهیزات فرآوری و ارتباط بین قسمت‌های مختلف از مشکلات عمده صنعت تولید توت‌فرنگی می‌باشد (Salami et al., 2010).

کیفیت یک مفهوم بشری است که پارمترهای زیادی را در بردارد (Samimi et al., 2017). کیفیت میوه به وسیله پارمترهای مختلفی تعریف می‌گردد، که مجموعه آن‌ها تصویر کاملی از میوه مورد نظر را ارائه می‌دهد. طبق بررسی‌های گوناگون داده‌هایی از قبیل رنگ، شکل، اندازه و جرم برای مصرف کننده کافی نیستند (Abbot, 1991)؛ آن‌ها تمایل دارند اطلاعات بیشتری در مورد میوه‌ای که قرار است خرید کنند، داشته باشند (Voca et al., 2008). در مورد توت‌فرنگی کیفیت آن به ظاهر میوه (شدت و توزیع رنگ میوه، شکل، اندازه، عدم خرابی و فساد در بیرون آن)، سفتی و طعم آن (وابسته به مقادیر قند، اسیدهای آلی، فنولیک‌ها و ویژگی‌های مواد معطر فرار) بستگی دارد (Kader, 1991). هر چه محتوای اسید کمتر و مقدار ویتامین ث، مواد جامد محلول و به تبع آن قند بیشتر باشد، میوه دارای طعم بهتری خواهد بود

4- استادیار گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان.
(Email: mahmoud.as@tabrizu.ac.ir) (* - نویسنده مسئول):
DOI: 10.22067/iftstr.v16i2.79568

1 و 2- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه مهندسی بیوسیستم دانشگاه تبریز.
3- استادیار، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه ارومیه.

سازگاری بسیاری از واریته‌ها با منطقه بسیار اندک بوده و هنوز مطالعه جامعی در مورد طبقه‌بندی توت فرنگی به خصوص رقم پاروس که در ایران در سطح زیادی کشت می‌شود، یافت نشد. همچنین با بررسی‌های انجام شده استاندارد بین‌المللی برای طبقه‌بندی میوه توت‌فرنگی رقم پاروس (که کشت عمده را در ایران تشکیل می‌دهد) بر اساس خواص فیزیکی و شیمیایی یافت نشد. رقم پاروس به دلیل مقاوم بودن میوه در مقابل عوامل طبیعی، سازگاری با منطقه، ماندگاری و انبارداری مناسب و کیفیت رنگ بیشتر مورد توجه کشاورزان منطقه قرار گرفته و کشت عمده منطقه کردستان بعد از رقم کردستان به این رقم اختصاص یافته است. هدف از این تحقیق بررسی خواص فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی میوه توت‌فرنگی رقم پاروس و همچنین بررسی ارتباط بین آنها در طبقات مختلف می‌باشد. طبقه‌بندی بر اساس ویژگی‌های ظاهری شامل رنگ و اندازه با نظر فرد خبره در شش طبقه صورت خواهد گرفت.

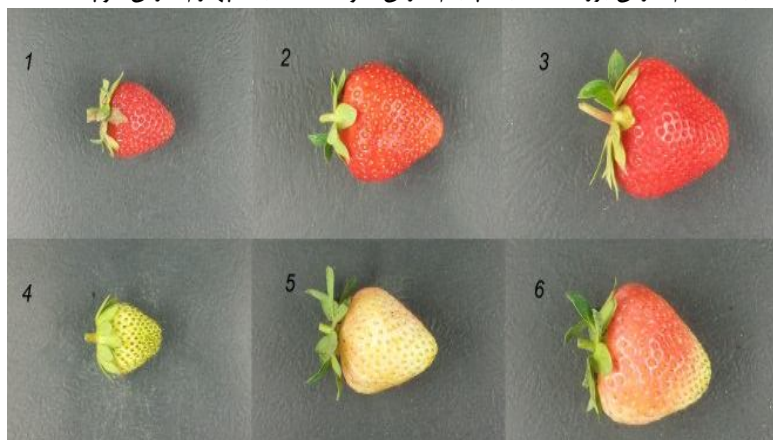
مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی مواد آزمایشگاهی

در استان کردستان توت‌فرنگی اغلب در فضای آزاد رشد نموده و سطح زیر کشت رقم تجاری پاروس به دلایل مختلف در حال پیشی گرفتن از سایر ارقام است. بنابراین برای انجام آزمایش‌ها، این رقم از مزارع روستای نشور سفلی از توابع شهرستان کامیاران استان کردستان تهیه شد. انتخاب نمونه‌ها به صورت کاملاً تصادفی انجام شد به گونه‌ای که یکنواختی در میان میوه‌های انتخابی حفظ شده و میوه‌ها هیچ‌گونه آسیب ظاهری نداشته باشند.

(Mitcham, 1996). مقایسه پارامترهای کیفی 24 رقم توت‌فرنگی نشان داد که اسیدیت، اسید آسکوربیک و اسیدهای آلی، مواد جامد محلول و قند به طور قابل توجهی بین ارقام مختلف متفاوت است (Wang et al., 1997). بنابراین بررسی خصوصیات فوق در هر طبقه تا حد قابل توجهی می‌تواند در انتخاب محصول تاثیر داشته باشد. همچنین خصوصیات فیزیکی محصولات کشاورزی علاوه بر تعیین کیفیت محصولات، عوامل تعیین کننده در طراحی سامانه‌های حمل و نقل، طبقه‌بندی، بسته‌بندی و فراوری هستند. برای طراحی و بهینه‌سازی یک سامانه شامل نگهداری، تمیز کردن، انتقال و جداسازی، دانستن خصوصیات فیزیکی و ارتباط بین آنها امری ضروری است (Wojdylo et al., 2009; Ozcan and Haciseferogullari, 2007). در پژوهشی برای تشریح خصوصیات ابعادی سه مشخصه طول، عرض و ضخامت توت‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت (Samimi Akhijahani and Khodaei, 2011). در پژوهشی دیگر برای تعیین خصوصیات فیزیکی توت‌فرنگی به اندازه‌گیری طول و قطر توت‌فرنگی اکتفا شد (Ozcan and Haciseferogullari, 2007). خصوصیات فیزیکی و شیمیایی چهار رقم توت‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفته و نتایج آن نشان داد پانزده خصوصیت در بین ارقام به‌طور معنی‌دار متفاوت بوده و واریانس آنها بین 0/36 و 29/68 درصد متغیر بود (Li et al., 2014). علاوه بر آن محققان دیگر به صورت محدود در مورد خواص فیزیکی و شیمیایی توت فرنگی با رقم‌های مختلف بررسی‌هایی را ارائه نموده‌اند (Wojdylo et al., 2009; Salamat, 2011; Nemzer et al., 2018). اما همچنان که اشاره شد این مطالعات به دلایلی نظیر کشت در مناطق محدود، متفاوت بودن واریته‌ها و عدم

طبقه سوم: رسیده بزرگ طبقه دوم: رسیده متوسط طبقه اول: رسیده کوچک
طبقه ششم: نارس بزرگ طبقه پنجم: نارس متوسط طبقه چهارم: نارس کوچک



شکل 1- طبقه‌بندی میوه توت‌فرنگی رقم پاروس طبقه‌بندی

تعیین خصوصیات فیزیکی و مکانیکی

اندازه‌گیری ابعاد میوه

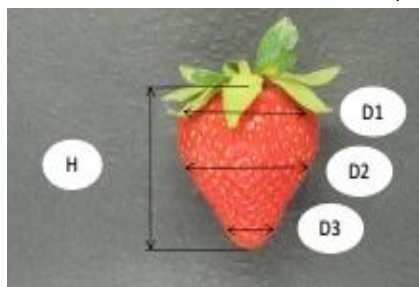
اندازه‌گیری ابعاد میوه برای هر طبقه در ده تکرار به‌وسیله کولیس دیجیتال با دقت 0/01 میلی‌متر به شرح زیر اندازه‌گیری شده و به‌صورت متغیر نسبت به قطرهای مختلف و ارتفاع محصول لحاظ گردید (Salamat, 2011, Samimi Akhijahani and Khodaei, 2011) (شکل 2):

D1: قطر بالایی در فاصله 2 میلی‌متر از غلاف آن

D2: قطر میانی در نقطه وسط از ارتفاع

D3: قطر پایینی در فاصله 2 میلی‌متر از راس میوه

H: فاصله عمودی بین غلاف میوه و راس آن



شکل 2- ابعاد توت‌فرنگی رقم پاروس

تغییر رنگ محسوس‌ترین تغییری است که میزان رسیدگی میوه را مشخص می‌کند و در میوه رسیده اغلب با از بین رفتن رنگ سبز در اثر تجزیه کلروفیل و ظاهر شدن یا سنتز رنگدانه‌های دیگر همراه است. آنتوسیانین، رنگدانه توت‌فرنگی است که غلظت آن در هنگام رسیدن افزایش یافته و هماهنگ با تجزیه کلروفیل به بیش‌ترین مقدار خود می‌رسد. برای انجام آزمایش‌ها شش طبقه در نظر گرفته شد. ترتیب طبقه‌ها: در طبقه یک الی سه، سطح محصول دارای رنگ صورتی بوده و فاصله عمودی راس محصول تا غلاف آن به ترتیب کمتر از 3، 3 الی 4 و بیشتر از 4 سانتی‌متر بود. در طبقه 4 و 5 رنگ سطح محصول سفید یا سبز و فاصله عمودی راس محصول تا غلاف آن به ترتیب کمتر از 3 و 3 الی 4 سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در طبقه ششم 20 الی 80 درصد سطح محصول دارای رنگ صورتی بوده و فاصله عمودی راس محصول تا غلاف آن بیش از 4 سانتی‌متر بود (شکل 1).

اندازه‌گیری چگالی ظاهری

چگالی ظاهری از نسبت جرم ماده بر حجم ظاهری آن قابل محاسبه است. به عبارت دیگر چگالی ظاهری، چگالی ماده با احتساب خلل و فرج آن می‌باشد. برای اندازه‌گیری چگالی از هر طبقه نمونه‌هایی جدا گردید و به‌منظور قرارگیری تصادفی نمونه‌ها نسبت به هم از ارتفاع 15 سانتی‌متری به‌وسیله قیف کاغذی داخل استوانه مدرج با وزن و حجم مشخص ریخته شدند و پس از سرریز شدن استوانه، میوه‌های اضافی کنار زده شد و با توزین استوانه مدرج حاوی نمونه‌ها، چگالی ظاهری از تقسیم وزن نمونه‌ها بر حجم استوانه مدرج محاسبه شد (Deshpande et al., 1991). این آزمایش برای هر طبقه در 3 تکرار انجام شد.

اندازه‌گیری تخلخل

تخلخل به صورت میزان خلل و فرج موجود در یک توده از ماده تعریف می‌شود. تخلخل به شکل هندسی، اندازه و ویژگی سطوح مواد بستگی دارد. اگر به ظرف حاوی ماده به صورت پیوسته و ملایم ضربه وارد شود از حجم توده‌ای و بالطبع از میزان خلل و فرج کاسته می‌شود. تخلخل را می‌توان به صورت مستقیم با یک وسیله به نام پیکنومتر هوا اندازه گرفت (Mohsenin, 1986) ولی در این تحقیق، تخلخل از

اندازه‌گیری چگالی و تخلخل

چگالی هر ماده جرم واحد حجم آن بوده و بیانگر میزان تراکم ماده در داخل جسم می‌باشد. چگالی بالاتر ناشی از آرایش مولکولی فشرده‌تر است. در این تحقیق دو نوع چگالی (چگالی حقیقی و چگالی ظاهری) برای محصول اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری چگالی حقیقی

چگالی حقیقی از نسبت جرم ماده بر حجم حقیقی آن قابل محاسبه است. به عبارت دیگر چگالی حقیقی، چگالی ماده بدون احتساب خلل و فرج آن می‌باشد. اندازه‌گیری جرم و حجم حقیقی میوه برای هر طبقه در پنج تکرار صورت گرفت. جرم به‌وسیله ترازوی دیجیتال (AND، ژاپن) با دقت 0/001 گرم اندازه‌گیری شد. در یک ظرف مدرج، مقدار معینی آب ریخته، سپس هر نمونه به‌وسیله یک گیره به داخل آب فرو برده شد (روش جابجایی سیال). تغییرات حجم آب نشانگر حجم هر نمونه بود. به‌منظور جلوگیری از نفوذ آب در محصول، محصول به ماده مقاوم به نفوذ آب و یا به مواد دیگری مانند تولوئن، تترا کلرید و الکل آغشته می‌شود (Razavi and Akbari, 2012) که در این آزمایش از الکل برای این کار استفاده شد.

$$\left| \frac{\text{چگالی ظاهری} - \text{چگالی حقیقی}}{\text{چگالی حقیقی}} \right| = \text{تخلخل}$$

(1)

تقسیم قدر مطلق تفاضل دو چگالی بر چگالی حقیقی به دست آمد (Razavi and Akbari, 2012; Ghanbarzadeh, 2007):



شکل 3- دستگاه اندازه گیری سفتی و نقطه تسلیم بیولوژیکی

(2) مقدار رنگ مصرفی در تیتراسیون اسید آسکوربیک خالص /
0/5 = اکسی والان رنگ

به منظور اندازه گیری ویتامین ث (اسید آسکوربیک)، از روش تیتراسیون با ایندوفینیل استفاده شد (Mostofi and Najafi, 2006) و از رابطه ذیل مقدار ویتامین ث بر حسب میلی گرم در صد گرم میوه به محاسبه گردید:

(3) وزن میوه / (100 × درجه دقت × اکسی والان رنگ × حجم رنگ مصرفی) = میزان اسید آسکوربیک

اندازه گیری اسیدیت

برای اندازه گیری اسیدیت یا اسید قابل تیتراسیون (TA) از روش تیتراسیون با سود 0/1 نرمال استفاده شد (Mostofi and Najafi, 2006) و از رابطه ذیل مقدار اسیدیت به صورت گرم اسید سیتریک (اسید غالب توت فرنگی) در هر 100 میلی لیتر میوه محاسبه گردید (Samec et al., 2016):

(4) مقدار عصاره میوه / (100 × اکسی والان اسید سیتریک × فاکتور سود × نرمالیت سود مصرفی × مقدرا سود مصرف شده) = میزان اسیدیت

اندازه گیری مواد جامد محلول

مواد جامد محلول به وسیله دستگاه رفاکتومتر دستی (ATAGO، ژاپن) و در دمای اتاق اندازه گیری شد (Salamat, 2011).

اندازه گیری شاخص طعم

شاخص طعم که بالا بودن آن نشان دهنده شیرین بودن میوه است (Pelayo-Zaldivar, 2005)، از رابطه زیر به دست آمد:

اندازه گیری سفتی و نقطه تسلیم بیولوژیکی

امروزه در بیشتر تحقیقات مرتبط با اندازه گیری سفتی، ماشین های آزمون یونیورسال اینسترون مورد استفاده قرار می گیرد (Samimi Akhijahani and Khodaei, 2011). در این آزمایش از دستگاه یونیورسال Zwick/Roell استفاده شد. میوه پس از قرارگیری در وضعیت طبیعی خود با سرعت معین و استاندارد 50 میلی متر بر دقیقه تحت فشار قرار گرفت و سفتی و نیروی مربوط به نقطه تسلیم بیولوژیک در رایانه دستگاه ثبت شد (شکل 3). این آزمایش برای هر طبقه در 5 تکرار انجام شد.

تعیین خصوصیات شیمیایی

تمام آزمایش های مربوط به اندازه گیری خصوصیات شیمیایی برای هر طبقه در پنج تکرار به شرح زیر صورت گرفت.

اندازه گیری ویتامین ث

برای اندازه گیری ویتامین ث، 30 گرم متافسفریک در 80 میلی لیتر اسید استیک خالص به همراه آب مقطر حل گردید و حجم آن به یک لیتر رسانده شد. 40 میلی گرم از 2 و 6 دی کلرو فندونیل سدیم در 150 میلی لیتر آب مقطر ولرم حل گردید. 42 میلی گرم سدیم بی کربنات به آن اضافه گردیده و پس از سرد شدن محلول با آب مقطر به حجم 200 میلی لیتر رسانده شد. 200 میلی گرم اسید آسکوربیک خالص در 10 میلی لیتر متافسفریک 3% حل گردید و با آب مقطر به حجم 100 میلی لیتر رسانده شد. یک میلی لیتر از محلول برداشته شد و دوباره تا حجم 100 میلی لیتر رقیق شد. پس از آن 5 میلی لیتر از محلول به دست آمده برداشته شده و با معرف ایندوفینیل 0/04% تیترا گردید تا تغییر رنگ حاصل گردد و به مدت 10-15 ثانیه پایدار بماند. حجم رنگ اضافه شده ثبت گردید و از رابطه (2) اکسی والان رنگ محاسبه گردید:

(5) اسیدیت/ مواد جامد محلول کل = شاخص طعم میوه

مقایسه میانگین‌ها (میانگین طبقات با هم) از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش‌های انجام شده در این تحقیق بر پایه طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت که در آن فاکتور طبقه به صورت شش تیمار در نظر گرفته شد. نمونه‌برداری از هر طبقه به صورت کاملاً تصادفی انجام گرفت. به منظور بررسی اثر طبقه در هر یک از خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی طبقات (تیمارها) داده‌های ثبت شده وارد نرم‌افزار Spss 16 شده، پس از تجزیه واریانس از آزمون F استفاده گردید. همچنین برای

نتایج و بحث

خصوصیات شیمیایی

نتایج آنالیز واریانس اثر طبقه بر خصوصیات شیمیایی در جدول 1 آورده شده است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد تمام خصوصیات شیمیایی اعم از اسید آسکوربیک، اسیدیت، مواد محلول جامد کل و شاخص طعم، به طور بسیار معنی‌داری تحت تاثیر طبقه قرار دارند.

جدول 1- آنالیز واریانس اثر طبقه بر خصوصیات شیمیایی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		اسید آسکوربیک	اسیدیت	مواد جامد محلول کل	شاخص طعم
طبقه	5	1817/513**	0/305**	26/410**	155/642**
خطا	24	4/472	0/002	0/175	0/138
کل	29				

* و ** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و ^{ns} به معنی عدم وجود اختلاف معنی‌دار

درشت‌تر، به میزان بالاتری گزارش شده است (Abolghasemi *et al.*, 2010). مواد جامد محلول تحت تاثیر چند عامل می‌باشند: قندها (به عنوان جز اصلی)، اسیدهای آلی و پکتین‌های آلی. با پیشرفت رسیدگی و افزایش مقدار قند، میزان مواد جامد محلول افزایش پیدا می‌کند. همچنین بررسی مقادیر میانگین مواد جامد محلول کل برای طبقات مختلف نشان داد که بیشترین مقدار مواد جامد محلول کل مربوط به طبقات یک و دو است. بر اساس آزمون مقایسه میانگین کمترین اختلاف معنی‌دار برای مواد جامد محلول بین طبقات یک، دو و سه و بین طبقات چهار و پنج اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. میزان آن برای طبقات یک، دو و سه بیشتر از طبقات بالاتر به دست آمد (تقریباً دو برابر). شاخص طعم یکی از شاخص‌های مهم کیفی می‌باشد. در جدول 2، مقادیر میانگین طعم برای طبقات مختلف نشان داده شده که بیشترین مقدار طعم مربوط به طبقات یک، دو و سه (بین 12/6 تا 16/3) است. مقدار آن برای میوه توت‌فرنگی از مرحله فیزیولوژیکی تا مرحله رسیدگی کامل از 5/5 تا 6/5 گزارش شده است (Strum *et al.*, 2003). بر اساس آزمون مقایسه میانگین، اختلاف معنی‌داری برای طعم بین طبقات یک، دو و سه با طبقات چهار و پنج و شش وجود داشت. به عبارت دیگر با افزایش رسیدگی میوه طعم آن بهتر می‌گردد. شاخص طعم بیان‌کننده نسبت مواد جامد محلول به اسیدیت بوده و همبستگی بالایی با سفتی میوه دارد. ضریب همبستگی سفتی با شاخص طعم، 0/76 و با مواد جامد محلول، 0/67-، گزارش شده است (Salamat, 2011). به طور کل طعم یک محصول را به نسبت قند، اسید، ترکیبات

بررسی مقادیر میانگین ویتامین ث برای طبقات مختلف (جدول 2) حاکی از آن بود که بیشترین مقادیر ویتامین ث به ترتیب مربوط به طبقات سه، دو و یک است. به عبارت دیگر بیشترین مقادیر ویتامین ث مربوط به میوه‌های رسیده می‌باشد. این نتیجه با تحقیقات مشابه برای به دست آوردن میزان ویتامین ث و رابطه آن با رسیدگی میوه در محصولات مشابه سازگاری دارد (Wang *et al.*, 1997; Darrow *et al.*, 1947). در تحقیقی، مقدار ویتامین ث در مرحله رسیدگی کامل بین 44/88 تا 65/86 میلی‌گرم در 100 گرم میوه تازه توت‌فرنگی به دست آمد (Samec *et al.*, 2016; Voca *et al.*, 2008). همچنین بین طبقات یک با دو و سه، چهار و پنج با شش از لحاظ مقدار ویتامین ث اختلاف معنی‌داری وجود دارد. به عبارت دیگر مقدار ویتامین ث با اندازه میوه رابطه مستقیم دارد و با افزایش اندازه میوه (ارتفاع و قطر در جدول 6)، میزان ویتامین ث در میوه افزایش می‌یابد. در جدول 2 مقادیر اسیدیت بین طبقات از 0/55 تا 1/08 متغیر بوده و کمترین مقادیر اسیدیت به ترتیب مربوط به طبقات یک، دو و سه است. بدون در نظر گرفتن رسیدگی، اسیدیت برای ارقام مختلف بین 0/5 تا 1/8 گزارش شده است (Strum *et al.*, 2003). بر اساس آزمون مقایسه میانگین، اختلاف معنی‌داری بین طبقات یک، دو و سه با طبقات چهار، پنج و شش وجود دارد. به عبارت دیگر با رسیدگی میوه به میزان قند میوه افزوده شده و از اسید سیتریک که 90% اسید توت‌فرنگی را تشکیل می‌دهد، کاسته می‌شود (Salamat, 2011). بین طبقات یک با دو و سه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. مقادیر اسیدیت برای میوه‌های

(*al.*, 2005). به طور خلاصه می توان گفت با افزایش رسیدگی میوه توت فرنگی تغییراتی در ساختار میوه رخ می دهد که باعث افزایش اسید آسکوربیک، کاهش اسیدیته، افزایش مواد جامد محلول و قندها می گردد (*Wang et al.*, 1997).

فرار و اثر ترکیبی آن ها ارتباط می دهند. تغییر طعم میوه رسیده به خاطر قند آن می باشد که از کربوهیدرات ذخیره شده (نشاسته) در ساختار آن ساخته می شود. این تبدیل دو اثر مهم یعنی شیرین شدن و نرم شدن بافت را به همراه دارد. همبستگی بین میزان قند و مواد جامد محلول در میوه های مشابه 0/91 گزارش شده است (*Pelayo-Zaldivar et*

جدول 2- آزمون مقایسه میانگین کمترین اختلاف معنی دار برای خواص شیمیایی

ویژگی ها	طبقه					
	1	2	3	4	5	6
اسید آسکوربیک (mg/ 100g fruit)	39/53 ^b	44/06 ^a	47/2 ^a	7/25 ^d	7/2 ^d	13/55 ^c
اسیدیته (%)	0/55	0/64 ^c	0/67 ^c	1/08 ^a	1/01 ^a	0/99 ^b
مواد جامد محلول کل (%)	8/9 ^a	8/6 ^a	8/4 ^a	4/0 ^c	4/2 ^c	5/5 ^b
شاخص طعم	16/3 ^a	13/5 ^b	12/6 ^c	3/6 ^e	3/6 ^e	5/5 ^d

طبقه قرار دارند. به عبارت دیگر برای هر یک از خصوصیات فیزیکی و مکانیکی (ارتفاع، قطر متوسط، جرم، چگالی ظاهری و حقیقی، سفتی و نیروی تسلیم) حداقل دو طبقه توت فرنگی یافت می شود که با سطح معنی داری یک درصد در آن خصوصیت با هم تمایز داشته باشند.

خصوصیات فیزیکی و مکانیکی

نتایج آنالیز واریانس اثر طبقه بر خصوصیات فیزیکی و مکانیکی در جداول 3، 4 و 5 آورده شده است. نتایج آنالیز واریانس بیان می نماید، تمام خصوصیات فیزیکی و مکانیکی به طور بسیار معنی داری تحت تاثیر

جدول 3- آنالیز واریانس اثر طبقه بر ارتفاع و میانگین قطر

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		ارتفاع	قطر متوسط
طبقه	5	207/751 ^{**}	448/350 ^{**}
خطا	54	6/848	7/066
کل	59		

* و ** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و ^{ns} به معنی عدم وجود اختلاف معنی دار

رسیدگی هر چه بیشتر میوه و به عبارت دیگر آب دار شدن میوه، مقدار دانسیته افزایش می یابد. در تحقیقی در رابطه با میوه نارنگی رقم یاشار مشخص شد که با رسیدگی میوه مقدار چگالی آن افزایش می یابد (*Fatahi moghadam et al.*, 2016). نتایج به دست آمده برای توت فرنگی پاروس با نتایج پیشین مطابقت مناسبی داشت (*Li et al.*, 2012; *Rodriguez-Ramirez et al.*, 2014). برای رقم کردستان مقدار آن بسته به نوع رطوبت از 652 kg/m³ تا 1102 kg/m³ متغیر بود (*Samimi Akhijahani and Khodaei*, 2011). در جدول 6 تغییرات میانگین مقدار چگالی ظاهری برای طبقه های مختلف نشان داده شده است. با توجه به جدول مشخص است که بیشترین مقدار چگالی ظاهری مربوط به طبقه یک و چهار و کمترین مقادیر آن مربوط به طبقه شش و پنج می باشد. چگالی ظاهری محصولات کشاورزی

آزمون مقایسه میانگین کمترین اختلاف معنی دار برای خواص فیزیکی و مکانیکی در جدول 6 نشان می دهد که طبقات یک با چهار، دو با پنج و سه با شش از لحاظ ارتفاع، قطر، جرم و حجم اختلاف معنی داری ندارند که نشان داد طبقه بندی بر اساس اندازه (کوچک، متوسط و بزرگ) به درستی صورت گرفته است. اما از لحاظ چگالی حقیقی اختلاف بین طبقات یاد شده معنی دار می باشد. مقایسه مقادیر میانگین چگالی حقیقی نشان داد که بیشترین مقادیر چگالی حقیقی مربوط به طبقه سه و دو و کمترین مقادیر آن مربوط به طبقات چهار و پنج می باشد. علت این امر بیشتر بودن مواد جامد محلول در میوه های رسیده تر و درشت تر نسبت به سایر طبقات می باشد. با پیشرفت رسیدگی، مقدار چگالی به علت افزایش مواد جامد محلول افزایش پیدا می کند. زیرا دانسیته مواد جامد تشکیل دهنده توت فرنگی از آب کمتر بوده، با

مختلف نشان داده که بیشترین مقدار تخلخل برای طبقه سه و شش و کمترین آن برای طبقه یک و چهار می‌باشد. همان‌طور که از جدول 6 مشخص است، نسبت تخلخل به‌طور عمده تحت تاثیر اندازه میوه قرار داشته و کمتر تحت تاثیر میزان رسیدگی است. به عبارت دیگر هرچه میوه‌ها ریزتر باشند فضای معین را بهتر پر نموده و فضاهای خالی کمتری برجای می‌گذارند (Razavi and Akbari, 2012; Ghanbarzadeh, 2007).

بستگی به عوامل مختلفی نظیر شکل هندسی، اندازه، خواص سطحی، مقدار رطوبت و روش اندازه‌گیری دارد. در مورد توت‌فرنگی هر چه میوه گردتر، اندازه کوچک‌تر (میوه‌های داخل ظرف به هم نزدیک‌تر و خلل و فرج کمتر) و محتوای رطوبتی بیشتر (مواد جامد محلول بیشتر) باشد، چگالی ظاهری بیشتر می‌گردد (Razavi and Akbari, 2012). این میزان برای طبقات یک و چهار به ترتیب 561/743 و 498/408 گرم بر میلی‌متر مکعب به‌دست آمد. در جدول 6 نسبت تخلخل برای طبقات

جدول 4- آنالیز واریانس اثر طبقه بر خصوصیات فیزیکی (جرم، حجم، چگالی حقیقی) و مکانیکی (سفتی، نقطه تسلیم)

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				نقطه تسلیم بیولوژیکی
		جرم	حجم	چگالی حقیقی	سفتی	
طبقه	5	272/900**	315/926**	12952/882**	330/704**	2580/165**
خطا	24	1/513	1/627	102/141	14/184	161/893
کل	29					

* و ** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و ^{ns} به معنی عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جدول 5- آنالیز واریانس اثر طبقه بر چگالی ظاهری

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		چگالی ظاهری	
طبقه	5	16038/805**	
خطا	17	148/475	
کل	12		

توت‌فرنگی و تاثیر آن بر زمان برداشت محصول انجام گرفت، سفتی آن بین 10/4 تا 29/7 نیوتن بر میلی‌متر مربع به‌دست آمد (Salamat, 2011). در جدول 6 اثر طبقه بر نیروی تسلیم بیولوژیک نشان داده شده است. نتایج مقایسه میانگین نیروی تسلیم مشخص نمود که به ترتیب طبقه‌های چهار، پنج و شش دارای بیشترین مقدار نیروی تسلیم و طبقه‌های یک، دو و سه دارای کمترین مقدار نیروی تسلیم هستند. جدول 6 نشان می‌دهد که علی‌رغم کم بودن سفتی طبقه سه نسبت به طبقه یک و دو، مقدار نیروی تسلیم آن بیشتر است. به عبارت دیگر با توجه به آنکه سفتی از تقسیم نیرو به سطح مقطع حاصل می‌شود و علی‌رغم این که نیروی تسلیم در نمونه‌های طبقه سه نسبت به طبقه یک و دو بیشتر است اما سفتی آن به دلیل بزرگتر بودن اندازه و سطح مقطع میوه، کمتر است. علت کم بودن نیروی تسلیم در طبقه شش نسبت به طبقه چهار و پنج، رسیدگی کامل‌تر و نرم بودن بافت آن توصیف می‌گردد. بیشترین میزان نیروی تسلیم بیولوژیک 74/5 نیوتن برای طبقه چهار و کمترین آن 13/7 نیوتن برای طبقه یک به‌دست آمد. به‌طور کلی نیروی تسلیم بیولوژیکی با رسیدگی میوه کاهش می‌یابد. نقطه تسلیم بیولوژیکی مربوط به توت‌فرنگی رقم کردستان در رطوبت‌های مختلف از 24 نیوتن تا 103 نیوتن متغیر بود (Samimi Akhijahani and

نتایج مقایسه میانگین سفتی طبقات مختلف در جدول 6 نمایش داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که به ترتیب طبقه‌های سه، دو و یک دارای کمترین مقدار سفتی بوده و با افزایش میزان رسیدگی، مقدار سفتی کاهش پیدا می‌کند. میوه رسیده دارای سلول‌های بزرگ و دیواره سلولی نازک‌تر می‌باشد و همین امر باعث شکنندگی ساختار آن می‌شود. در میوه نرسیده سلول کوچک‌تر و دیواره سلولی ضخیم‌تر است که این امر باعث تشکیل بافت سفت‌تر می‌گردد. با توجه به اینکه میوه‌های رسیده مواد جامد محلول تقریباً یکسانی دارند، بنابراین میوه‌های درشت‌تر (ارتفاع بیشتر) دارای سفتی کمتری خواهند بود. بیشترین میزان سفتی برای طبقه چهار و کمترین آن برای طبقه یک به ترتیب با میزان 28/2 و 5/2 نیوتن بر میلی‌متر مربع به‌دست آمد. با رسیدگی میوه توت‌فرنگی، افزایشی در مقدار آنتوسیانین اتفاق می‌افتد که با کاهش محتوای کلروفیل و سفتی همراه است (Kader, 1991). تفاوت‌های سفتی بین میوه‌های نارس و رسیده در حین ذخیره‌سازی انرژی، کاهش می‌یابد (Doving and Mago, 2002). سفتی میوه هلو در گذار از مرحله نیمه رسیده به مرحله رسیدگی کامل، به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (Abolghasemi et al., 2010). داده‌ها نشان داد که مقدار این کاهش به اندازه میوه بستگی دارد. در تحقیقی که بر روی سفتی میوه

(Khodaei, 2011). علاوه بر آن محصولات مشابه مانند کیوی (Tabatabaikoolor, 2014) و سیب (Gorji Chaksepari et al., 2010) نقطه تسلیم بیولوژیکی از 41/5 تا 101/6 متغیر بود.

جدول 6- آزمون مقایسه میانگین کمترین اختلاف معنی‌دار برای خواص فیزیکی و مکانیکی

ویژگی‌ها	طبقه					
	1	2	3	4	5	6
ارتفاع (mm)	29/44 ^a	36/63 ^b	42/48 ^c	26/47 ^a	33/08 ^b	42/07 ^c
قطر (mm)	16/93 ^a	22/73 ^b	26/66 ^c	17/09 ^a	20/51 ^b	27/88 ^c
جرم (g)	4/925 ^a	11/909 ^b	21/779 ^c	5/471 ^a	11/710 ^b	21/437 ^c
حجم (mm ³)	5/227 ^a	12/377 ^b	22/439 ^c	6/357 ^a	13/590 ^b	24/322 ^c
دانسیته حقیقی (g.mm ⁻³)	942/367 ^a	962/449 ^b	970/166 ^b	860/592 ^c	861/623 ^c	881/513 ^d
دانسیته ظاهری (g.mm ⁻³)	561/743 ^a	430/87 ^b	401/441 ^{bc}	498/408 ^d	385/318 ^c	376/956 ^c
تخلخل (%)	40/390	55/232	58/621	42/085	55/280	57/238
سفتی (N.mm ⁻²)	10/1 ^{ab}	7/8 ^{ab}	5/2 ^c	28/2 ^d	13/7 ^a	11/5 ^{ab}
نیروی تسلیم بیولوژیکی (N)	13/7 ^a	16/9 ^a	29/7 ^{ab}	74/5 ^c	50/1 ^b	35/1 ^{ab}

طبقات یک تا سه از 40/390 تا 58/621 درصد افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد و پس از آن از طبقات چهار تا شش از 42/085 تا 57/238 درصد افزایش می‌یابد. با افزایش رسیدگی میوه میزان سفتی کاهش می‌یابد که بیشترین مقدار آن 28/2 نیوتن بر میلی‌متر مربع برای طبقه چهار و کمترین آن 5/2 نیوتن بر میلی‌متر مربع برای طبقه یک به دست آمد. بیشترین میزان سفتی برای طبقه چهار کمترین آن برای طبقه یک به ترتیب با میزان 74/5 و 13/7 نیوتن مربع به دست آمد. در نهایت از داده‌های حاصل شده برای طبقه‌بندی میوه توت‌فرنگی رقم پاروس بهره گرفت. نتایج این تحقیق می‌تواند برای طراحی و ساخت مکانیزم‌های پس از برداشت و درجه‌بندی محصولات کشاورزی که نیاز به اطلاعات جامع از خواص فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی وجود دارد، استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دارند که از حمایت‌های مالی و معنوی دانشگاه تبریز (تحت عنوان پایان‌نامه کارشناسی ارشد) برای انجام آزمایش‌ها تشکر و سپاس‌گزاری نمایند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عامل طبقه بر روی تمام خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی به‌صورت معنی‌داری موثر است. اما تمام طبقه‌ها در رابطه با یک خصوصیت خاص، الزاما اختلاف معناداری ندارند. در چنین شرایطی بررسی چند خصوصیت برای پیدا کردن تمایز بین طبقات می‌تواند موثر باشد. بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها میزان ویتامین ث بین طبقات دو و سه اختلاف معنی‌دار کم و بین طبقات چهار و پنج اختلاف معنی‌داری نداشت. مقادیر اسیدیته بین طبقات از 0/55 درصد برای طبقه یک تا 1/08 درصد برای طبقه چهار متغیر بود. میزان مواد جامد محلول کل برای طبقات یک، دو و سه از 8/4 تا 8/9 درصد و برای طبقات چهار، پنج و شش از 4/0 تا 5/5 درصد تغییر می‌نمود. با گذر از طبقه یک به سمت طبقه شش میزان شاخص طعم به دلیل کاهش میزان قند و اسید کاهش می‌یابد. نتایج آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LDS) برای ارتفاع، قطر، جرم و حجم در طبقات نشان داد که طبقات یک با چهار، دو با پنج و سه با شش اختلاف معنی‌داری ندارند. کمترین مقادیر چگالی حقیقی برای طبقات چهار و پنج به دلیل نارس بودن و کوچک بودن اندازه به دست آمد. همچنین میزان چگالی ظاهری طبقات یک و چهار به دلیل افزایش گردی و محتوای رطوبتی بیشترین مقدار به دست آمد. نسبت تخلخل از

منابع

- Abbott, J. A. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Journal of postharvest Biology and Technology*, 15: 207-225.
- Abolghasemi, R., B. Emadi, M. H. Aghkhani, and S. Beyraghi Toosi. 2010. Determination of the parameters of peach molding using ultrasonic waves. *Journal of Iranian Food Industry Researches*, 5 (1): 63-74. (In Farsi).

- Darrow, G. M., M. S. Wilcox, W. D. Scott, and M. C. Hutchins. 1947. Breeding Strawberries for Vitamin C. *Journal of Heredity*, 38: 363-365.
- Deshpande, S. D., S. Bal. and T. P. Ojha. 1991. Physical properties of soybean. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 56: 89-98.
- Doving, A., and F. Mago. 2002. Methods of testing strawberry fruit firmness. *Journal of Acta Agriculture Scandinavica*, 52: 43-51.
- Fatahi Moghadam, J., S. E. Seyed Ghasemi, and S. Maadani. 2016. Effect of five basic on the physical, mechanical and chemical properties of yashar variety tangerine fruit during ripening process. *Plant production researches magazine*, 24(2): 109-123.
- FAO. 2013. FAOSTAT Agricultural Statistics Database. Retrieved from <http://www.fao.org>.
- Ghanbarzadeh, B. 2007. Physical features of food of food processing systems. Ayyzh. Tehran. (In Farsi)
- Gorji Chaksepari, A., A. Rajabipor, H. Mobli. 2010. Strength behaviour study of apples under compression loading. *Modern Applied Science*, 4(7): 173-181.
- Kader, A.A. 1991. Quality and Its Maintenance in Relation to the Postharvest Physiology of Strawberry, p. 145-152, In: A. Dale and J.G Luby (editors).
- Li, L., B. Li, H. Li Shang, D. Nan Li, X. Jun Meng, G. Hui Huang. 2014. Physical and Chemical Properties of Four Strawberry Cultivars. *Advanced Materials Research*, 1010-1012: 1215-1219.
- Mitcham, B. 1996. Quality assurance for Strawberries: A Case Study. Perishables Handling Newsletter Issue No. 85. Pages 6-9.
- Mohsenin, N.N. 1986. Properties of Plant and Animal Material. Gordon and Breach. New York.
- Mostofi, M. and F. Najafi. 2006. Laboratory analytical methods in Horticultural Science. Tehran University. Tehran. (In Farsi)
- Nemzer, B., L. Vargas, X. Xia, and H. Feng. 2018. Phytochemical and physical properties of blueberries, tart cherries, strawberries, and cranberries as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, 262: 242-250.
- Ozcan, M.M. and H. Haciseferogullari. 2007. The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruit. Chemical composition physical properties and mineral contents. *Journal of Food Engineering*, 78: 1022-1028.
- Pelayo-Zaldivar, C., S. E. Ebeler, and A. Kader. 2005. Cultiver and harvest date effect on flavor and other quality attributes of California strawberries. *Journal of Food Quality*, 28: 78-97.
- Razavi, M.A. and R. Akbari. 2012. Bio-physical properties of agricultural products and foodstuffs. Ferdowsi University of Mashhad. Mashhad. (In Farsi)
- Rodriguez-Ramirez, J., L. Mendez-Lagunas, A. Lopez-Ortiz, and S. Sandoval Torres. 2012. True Density and Apparent Density during the Drying Process for Vegetables and Fruits: A Review. *Journal of Food Science*, 77(12): 145-154.
- Salamat. R. 2011. Study the changes in strawberry Stiffness and determine the appropriate date of harvest. Faculty of Agriculture. Tabriz University, Tabriz. (In Farsi)
- Salami, P., H. Ahmadi, A. Keyhani, and M. Sarsaifee. 2010. Strawberry post-harvest energy losses in Iran. *Researcher*, 2: 67-73.
- Samec, D., M. Maretic, I. Lugaric, A. Mesic, B. Duralija. 2016. Assessment of the differences in the physical, chemical and phytochemical properties of four strawberry cultivars using principal component analysis. *Food Chemistry*, 194 (1): 828-834.
- Samimi Akhijahani, H. and J. Khodaei. 2011. Some physical properties of strawberry (Kurdistan variety). *World Applied Sciences Journal*, 13 (2): 256-212.
- Samimi-Akhijahani, H., Arabhosseini, A., Kianmehr, M.H. 2017. Comparative quality assessment of different drying procedures for plum fruits (*Prunus domestica* L.), *Czech J. Food. Eng.* 35: 449-455.
- Strum, K., D. Koron, and F. Stampar. 2003. The composition of fruit of different strawberry varieties depending maturity stage. *Food chemistry*, 83: 417-422.
- Tabatabaikoloor, R. 2014. Bio-mechanical behavior of kiwifruit by fruit orientation and storage conditions. *International Conference Agricultural Engineering, Zurich*, 6-10 July.
- Taghavi, T. 2005. Strawberry Production Guide. Sana. Tehran. (In Farsi)
- Voca, S., N. Dobricevic, V. Dragovic-Uzelac, J. DuralijaDruzic, Z. Cmelik, and M .S. Babjelic. 2008. Fruit quality of new early ripening strawberry cultivars in Croatia *Journal of Food Technology and Biotechnology*, 46: 292-298.
- Wang, S.Y., G. J. Galletta, and J.L. Mass. 1997. Chemical characterization of 24 strawberry cultivars and selection *Journal of Small Fruit & Viticulture*, 5: 21-36
- Wojdylo, A., A. Figiel, J. Oszmianski. 2009. Effect of drying methods with the application of vacuum microwaves on the bioactive compounds, color, and antioxidant activity of strawberry fruits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57: 1337-1343.



Physical, mechanical and chemical properties of strawberry variety of *Parus* at different classes

F. Fatehi¹, A. Mahmoudi^{2*}, A. Hosseinpour³, H. Samimi Akhijahani⁴

Received: 2019.03.06

Accepted: 2019.06.23

Introduction: Strawberry is one of the native and small fruits of moderate regions, which its cultivation has been increased in all over the world including Iran. Due to the abundance of vitamin C and mineral materials, it is very useful for some diseases. Lack of the knowledge in production management, harvesting, cooling, transportation, storage, marketing and processing equipments and connection between these different parts are the main problems through industrial production of strawberry fruit (Salami et al., 2010). According to the various studies, the parameters such as color, shape, size and mass are not sufficient for the consumer to purchase the fruit (Abbot, 1991). They would like to have more information about the fruit which is supposed to be purchased (Voca et al., 2008). Several researchers have been investigated physical and chemical properties of different varieties of strawberry fruit (Wojdylo et al., 2009; Salamat, 2011; Nemzer et al., 2018). According to the literature, any international standard classification for *Parus* strawberry (which is mostly cultivated in Iran) based on physical and chemical was not found. In this study, some physical, mechanical and chemical properties of strawberry fruit *Parus* variety, as well as the relationship between them, were investigated. The classification was performed based on the appearance features including color and size with the opinion of the expert in six classes.

Materials and methods: In Kurdistan province strawberry fruit is often grown in open area and cultivated areas of *Parus* variety due to many reasons are increasing. To classify the strawberries, six classes were considered. Physical and mechanical properties such as dimensions, density, porosity, stiffness and biological yield point were measured at least at five replications. The porosity of the strawberries was also calculated through the division of the difference between actual and apparent density to actual density. Also, the stiffness and biological yield point were measured using Universal Instron Testing Machine (Zwick/Roll). Chemical properties of *Parus* strawberry including vitamin C, acidity, total soluble solids and flavor index were investigated at five replications.

Results and discussions: The analysis of variance showed that all chemical properties including ascorbic acid, acidity, total soluble solids, and flavor index, were strongly influenced by the class. The LSD mean comparison showed that the highest levels of vitamin C were related to the ripe fruits which had a direct relationship with fruit size. The acidity values between the classes varied from 0.55 to 1.08, and the lowest value was related to the first, second and third classes, respectively. The total soluble solid material (TSS) was affected by some factors: sugar (as main part), organic acid and organic pectins and was increased by growing strawberries and increasing the amount of sugar. For the first, second and third classes, TSS was higher than those of the fourth, fifth and sixth classes. The flavor index value for the lower classes (first, second and third) is higher than the higher classes (almost 2 times). The analysis of variance for all physical and mechanical properties indicated that all parameters are affected by the classes. Due to its more soluble materials, the maximum value for actual density was related to the third and second classes, respectively. The apparent density of agricultural products depends on various factors such as geometric shape, size, surface properties, moisture content and measurement method. The apparent density for the first and fourth classes were 561.743 and 498.408 gr.mm⁻³, respectively. The maximum and minimum value of stiffness was related to first (about 5.2 N.mm⁻²) and fourth (about 28.2 N.mm⁻²), respectively. For biological yield the maximum value was related to the fourth class, as well.

Conclusion: In this study, the classification of strawberry, variety of *Parus* was investigated based on physical, mechanical and chemical properties. All properties were affected by changing the classes. The results of this research can

1 and 2. Former M. Sc student and Associate Professor, Department of Biosystem Engineering, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3. Assistant Professor of Department of Biosystem Engineering, University of Urmia, Urmia, Iran.

4. Akhijahani, Professor of Department of Biosystem Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

(* - Corresponding Author Email: mahmoud.as@tabrizu.ac.ir)

be used to design and construct post-harvest and sorting mechanisms of agricultural products which require comprehensive information about physical, mechanical, chemical properties.

Keywords: Physical and mechanical properties, Stiffness, Flavor index, Biological yield point.

بهینه‌سازی فرآیند تولید قرص فشرده گوجه‌فرنگی بر مبنای ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی و حرارتی در شرایط هوای گرم با پیش تیمار مایکروویو

منوچهر رشیدی¹ - رضا امیری چایجان^{2*} - علی قاسمی³

تاریخ دریافت: 1397/11/08

تاریخ پذیرش: 1398/03/21

چکیده

در این پژوهش اثر متغیرهای خشک‌کردن به شیوه هوای گرم با اعمال پیش تیمار مایکروویو شامل دمای هوا، سرعت هوا و مدت زمان مایکروویو بر ویژگی‌های فیزیکی (چروکیدگی و چگالی واحد)، مکانیکی (مقاومت به نفوذ) و حرارتی (ضریب انتشار مؤثر رطوبت و انرژی مصرفی خشک‌کردن) قرص فشرده تولید شده از پودر گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. فرآیند خشک‌کردن نمونه‌ها در پنج سطح دمایی 40، 50، 60، 70 و 80°C، پنج سطح سرعت هوا 0/5، 1، 1/5، 2 و 2/5 m/s و پنج زمان مختلف فرآیند مایکروویو صفر (بدون اعمال مایکروویو)، 4، 8، 12 و 16 s در توان ثابت 90 W صورت گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و بهینه‌سازی فرآیند خشک‌کردن با استفاده از روش سطح پاسخ انجام شد. نتایج نشان داد که استفاده از پیش تیمار مایکروویو سبب کاهش زمان خشک‌کردن و انرژی مصرفی آن و همچنین اثر معنی‌داری بر بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی قرص‌های فشرده تولید شده داشت. افزایش دمای هوای خشک‌کردن بر ضریب انتشار مؤثر رطوبت و چروکیدگی اثر مثبت و بر انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن، مقاومت به نفوذ و بر چگالی واحد اثر منفی داشت. با افزایش مدت زمان مایکروویو مقدار ضریب انتشار مؤثر رطوبت افزایش و با کاهش آن مقدار چروکیدگی محصول کاهش یافت. نقطه بهینه خشک‌کردن قرص فشرده تولید شده از پودر گوجه‌فرنگی در دمای 50°C، سرعت هوا 1 m/s و مدت زمان مایکروویو 4 s به‌دست آمد. خشک‌کردن تحت شرایط کمترین دما (40°C) و کمترین زمان مایکروویو (4 s) سبب بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی قرص فشرده گردید.

واژه‌های کلیدی: بهینه‌سازی، پیش تیمار مایکروویو، قرص فشرده گوجه‌فرنگی، خشک‌کردن.

مقدمه

شده جواب‌گوی نیاز بازار مصرف نیست. محتوای رطوبت بالای گوجه‌فرنگی سبب فسادپذیری سریع این محصول و کاهش زمان ماندگاری پس از برداشت آن می‌گردد، بنابراین نبود روش‌های مناسب برای فرآوری و نگهداری طولانی مدت این محصول منجر به بروز خسارت مالی قابل توجهی می‌گردد (Liu et al., 2010). خشک‌کردن یکی از این روش‌های پر استفاده در نگهداری و فرآوری مواد غذایی از جمله گوجه‌فرنگی است (And & Barrett, 2006). تولید پودر یک روش مناسب برای افزایش زمان نگهداری و عمر مفید مواد غذایی است. پودر گوجه‌فرنگی یکی از فرآورده‌های تولید شده از گوجه‌فرنگی خشک‌شده است که امروزه این محصول در جهان بازار خاصی را در اختیار دارد. پودر گوجه‌فرنگی دارای مزایای بسیاری از جمله ارزش تجاری بالا، مدیریت بهتر در بسته‌بندی و حمل و نقل آسان می‌باشد. علاوه بر این، تولیدکنندگان مواد غذایی از پودر گوجه‌فرنگی به‌عنوان یک ماده افزودنی در بسیاری از محصولات غذایی، به‌ویژه، سوپ، غذای فوری و سس گوجه‌فرنگی استفاده می‌کنند (Liu et al., 2010). پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهند که امروزه از پودر میوه به عنوان حامل‌های سلول‌های پروبیوتیک (Nuallkaekul et al.,

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) یکی از محبوب‌ترین محصولات باغی در سطح جهان به‌شمار می‌آید که پس از سیب‌زمینی دومین سبزی پر مصرف دنیا است. ایران با تولید حدود 6 درصد از تولید گوجه‌فرنگی دنیا، رتبه هفتم در تولید این محصول را دارد (FAO, 2017). گوجه‌فرنگی حاوی مواد مغذی مفیدی از جمله لیکوپن، اسید فنولیک و اسید آسکوربیک (ویتامین ث) است که برای سلامت انسان لازم می‌باشند. وجود لیکوپن در رژیم غذایی روزانه انسان سبب جلوگیری از خطر ابتلا به سرطان پروستات، بیماری‌های قلبی و عروقی و بیماری آب‌مروارید می‌شود (Demiray et al., 2013).

گوجه‌فرنگی در فصل برداشت آن به‌صورت مازاد تولید می‌شود، این در حالی است که در سایر فصول سال مقدار گوجه‌فرنگی تولید

1. 2 و 3- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجوی دکتری، گروه مهندسی بیوسستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

(*) - نویسنده مسئول: (Email: amirireza@basu.ac.ir)

DOI: 10.22067/iftstr.v16i2.78894

گیاهی در طول خشک کردن است که هم روی بافت و هم روی کیفیت محصول تأثیرگذار است (زرین نژاد و امیری چایجان، 1395). با توجه به مطالب گفته شده و اهمیت فرآوری گوجه فرنگی، به طور کلی اهداف این پژوهش عبارتند از: بررسی اثر متغیرهای مستقل (دمای هوا، سرعت هوا و مدت اعمال پیش تیمار میکروویو) بر متغیرهای پاسخ (چگالی واحد، چروکیدگی، مقاومت به نفوذ، ضریب انتشار مؤثر رطوبت و انرژی ویژه مصرفی خشک کردن) طی فرآیند خشک کردن قرص فشرده گوجه فرنگی به شیوه هوای گرم با اعمال پیش تیمار میکروویو و تعیین شرایط بهینه برای خشک کردن قرص فشرده گوجه فرنگی به کمک روش سطح پاسخ.

مواد و روش ها

آماده سازی و خشک کردن ورقه های گوجه فرنگی

گوجه فرنگی تازه با قطر متوسط بین 4 تا 6 cm از میدان میوه و تره بار استان همدان تهیه گردید. رطوبت اولیه گوجه فرنگی ها با استفاده از روش آون هوای داغ (سه نمونه 10 گرمی در دمای 60°C به مدت 48 ساعت) تعیین شد که مقدار آن برابر با 1606/5 d.b. به دست آمد (Marfil et al., 2008). به منظور تسریع در فرآیند خشک کردن، ابتدا پوست نازک گوجه فرنگی ها به شیوه غوطه وری در آب داغ با دمای حدود 50°C به مدت 30 s به کمک دست جدا شد و سپس نمونه ها به وسیله یک تیغ تیز در ضخامت های 3 mm برش خوردند. ورقه های گوجه فرنگی روی فویل های آلومینیومی قرار گرفته و به وسیله یک خشک کن نیمه صنعتی به شیوه هوای گرم در دمای 50°C در سرعت هوای 1 m/s خشک شدند. خشک شدن در شرایط دمایی بین 50 تا 60°C مواد مغذی گوجه فرنگی به ویژه ویتامین ث و لیکوپن آن را به صورت قابل قبولی حفظ می کند (Purkayastha et al., 2013). فرآیند خشک کردن نمونه ها تا رسیدن محتوای رطوبتی آن ها به زیر 10 d.b.، رطوبت مناسب جهت پودر کردن محصول، ادامه یافت.

فرآیند پودر کردن

ورقه های خشک گوجه فرنگی با استفاده از یک دستگاه آسیاب خانگی (پاناسونیک، MJ-M176P، مالزی) به مدت یک دقیقه آسیاب و پودر شدند. به منظور همگن کردن اندازه ذرات، پودر گوجه فرنگی حاصل توسط یک الک آزمایشگاهی با مش شماره 50 (اندازه منافذ 0/5 mm) الک و ذرات باقی مانده روی آن مجدداً آسیاب شدند، بنابراین، اندازه ذرات پودر مورد استفاده برای فرآیند قرص سازی کمتر از 0/5 mm بودند.

(2012)، در تولید آبنبات (da Silva et al., 2016)، قرص غذای فشرده¹ (Adiba et al., 2011؛ Shamsudin؛ Yusof et al., 2012؛ Widodo & Hassan, 2015) و قرص های میوه با قابلیت تجزیه بالا (Zea et al., 2013) استفاده شده اند.

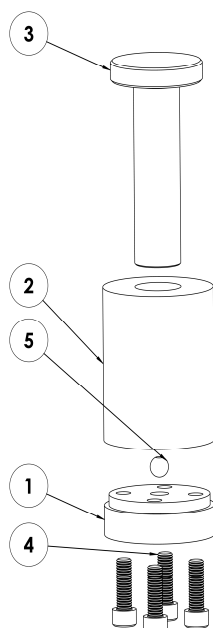
متراکم کردن پودر میوه تا سطح خاصی و تبدیل آن به شکل قرص سبب کاهش حجم و سطح پودر میوه می شود، در نتیجه احتمال انجام واکنش های تجزیه شیمیایی و تخریب مواد مغذی آن کاهش می یابد. اگر چه قرص سازی در حال حاضر یک فرآیند پر کاربرد در صنایع دارویی و متالورژی است، ولی تولید قرص غذای فناوری جدیدی است که با سرعت در صنعت مواد غذایی در حال توسعه است (Aziz et al., 2018). داشتن دانش فنی در هر یک از فرآیندهای تولید قرص فشرده در طراحی تجهیزات مناسب به منظور فرآوری بسیار مهم است (Aziz et al., 2018). با توجه به اطلاعات کمی که در تولید قرص های غذایی وجود دارد، مطالعه پارامترهای اثرگذار بر فرآیندهای قرص سازی از اهمیت خاصی برخوردار است. تا کنون پژوهش هایی در مورد شکل گیری قرص از پودرهای پیتایا، انبه، گواوا، خرما، اسپیرونا و نارنگی گزارش شده است (Adiba et al., 2011؛ Zea et al., 2013؛ Yusof et al., 2012؛ Zhang et al., 2012؛ Ong et al., 2014).

محتوای رطوبتی مناسب برای ذخیره سازی قرص ها به مدت بیشتر از چهار ماه برابر با 11 تا 13 d.b. است (Samuelsson et al., 2012). خشک کردن به شیوه هوای گرم یکی از رایج ترین روش های موجود در صنعت است، به طوری که بیش از 85% خشک کن های موجود در صنعت از نوع همرفتی هوای گرم هستند (Zarein et al., 2015). اگر چه این روش رایج ترین روش صنعتی خشک کردن محصولات کشاورزی است، اما به دلیل زمان طولانی و انرژی حرارتی بالای آن، سبب تخریب مواد مغذی، چروکیدگی و تغییرات رنگ محصول می شود (Figiel, 2010). امواج میکروویو با فرکانس 300 تا 300000 مگاهرتز بخشی از امواج الکترومغناطیس محسوب می شوند که قابلیت نفوذ بالایی دارند. بر خلاف روش خشک کردن همرفتی، در روش میکروویو، انرژی گرمایی از طریق واکنش مولکول ها در میدان الکترومغناطیسی مستقیماً به ماده منتقل می شود (زرین نژاد و امیری چایجان، 1395). خشک کن های میکروویو زمان خشک کردن را تا 99% کاهش می دهند (Śledź et al., 2013). به همین علت معمولاً در صنعت، از خشک های میکروویو و هوای گرم به صورت ترکیبی برای کاهش زمان خشک کردن محصولات استفاده می شود (حشمتی و سیفی، 1396). چروکیدگی از جمله تغییرات فیزیکی نامطلوب در ساختار بافت

که W_w وزن آب اضافه‌شده به پودر (g) ، W_i وزن اولیه پودر (g) ، M_f رطوبت نهایی $(d.b.)$ و M_i رطوبت اولیه $(d.b.)$ هستند.

فرآیند قرص‌سازی از پودر گوجه‌فرنگی

فرآیند تولید قرص‌های کروی شکل گوجه‌فرنگی، توسط یک دستگاه پرس هیدرولیک آزمایشگاهی و قالب ته بسته نشان داده شده در شکل 1، انجام شد. این قالب از سه بخش اصلی شامل فک بالایی، فک پایینی و یک پیستون تشکیل شده است. پس از رسیدن فشار روغن هیدرولیک در فرآیند قرص‌سازی به 75 bar، حرکت پیستون به مدت 15 ثانیه به منظور آزادسازی تنش‌های موجود در بافت محصول متوقف می‌شد (Wongsiriamnuay & Tippayawong, 2015). و سپس فشار از روی مواد برداشته می‌شد. در پایان، دو فک بالایی و پایینی به آهستگی از هم جدا شده و قرص تشکیل شده از قالب خارج می‌شد.



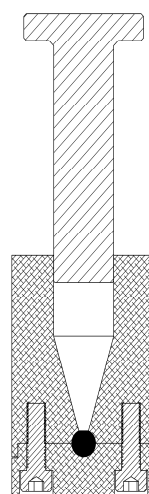
شکل 1- نمای برش‌خورده از قالب تشکیل قرص‌های کروی (1- فک پایینی، 2- فک بالایی، 3- پیستون، 4- پیچ‌های نگهدارنده و 5- قرص کروی).

40، 50، 60، 70 و 80°C، پنج سطح سرعت جریان هوای 0/5، 1، 1/5، 2 و 2/5 m/s و پنج زمان مختلف فرآیند مایکروویو صفر (بدون اعمال مایکروویو)، 4، 8، 12 و 16 s در توان ثابت 90 W انجام شدند. سرعت هوا توسط یک سرعت‌سنج توربینی لوترون مدل YK80AM در محل قرارگیری نمونه‌ها اندازه‌گیری و با تنظیم سرعت دورانی فن به مقدار مورد نظر رسید. طی فرآیند خشک‌کردن، دمای داخل محفظه توسط یک ترموستات (آتیین، ایران) با درجه تفکیک 1°C که به یک ترموکوپل نوع K متصل بود کنترل می‌شد. در هر آزمایش حدود

تهیه خمیر گوجه‌فرنگی قبل از فرآیند قرص‌سازی

با توجه به پیش آزمایش‌های انجام شده، محتوای رطوبتی مناسب به منظور ایجاد چسبندگی کافی بین ذرات پودر گوجه‌فرنگی 23 d.b.% انتخاب شد. با توجه به حلالیت بالای فروکتوز در آب و درصد بالایی مونوساکارید آن از شربت فروکتوز با غلظت 55 درصد به عنوان ماده چسبان استفاده شد. وزن آب مورد نیاز جهت رساندن محتوای رطوبتی پودر گوجه‌فرنگی به 23 d.b.% از رابطه 1 تعیین شد. شربت فروکتوز به نسبت 6 درصد وزنی (نسبت به وزن خام پودر گوجه‌فرنگی) در آب حل شد و محلول به دست آمده به پودر گوجه‌فرنگی اضافه شد. خمیر به دست آمده به مدت 72 ساعت در یخچال در دمای 4°C نگهداری شد تا فرآیند جذب رطوبت انجام شود.

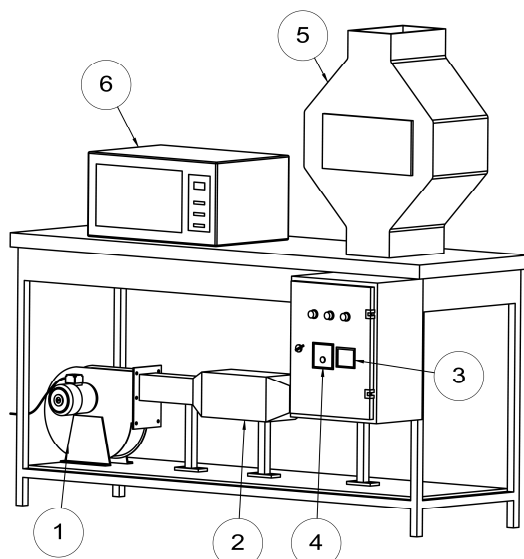
$$W_w = \frac{W_i (M_f - M_i)}{100 - M_f} \quad (1)$$



فرآیند خشک‌کردن قرص‌های فشرده

آزمایش‌های خشک‌کردن قرص‌های فشرده مرطوب بلافاصله پس از پایان فرآیند قرص‌سازی با استفاده از یک دستگاه خشک‌کن هوای گرم با پیش تیمار مایکروویو، نشان داده شده در شکل 2، انجام شدند. در این پژوهش به منظور اعمال پیش تیمار مایکروویو از یک دستگاه مایکروویو (شارپ، R959SLMA، تایلند) استفاده شد. این دستگاه برای مدت روشن بودن در توان مایکروویو، دارای تفکیک زمانی یک ثانیه بود. آزمایش‌های خشک‌کردن در پنج سطح دمایی

400 g قرص خشک می‌شد. طی مرحله خشک شدن در فواصل زمانی مشخصی، نمونه‌ها از خشک‌کن خارج و محتوای رطوبتی آنها تعیین می‌شدند. آزمایش‌ها تا رسیدن به محتوای رطوبتی 10 d.b.% ادامه یافت.



شکل 2- شماتیکی از دستگاه خشک‌کن هوای گرم - ماکروویو (1- دمنده شعاعی، 2- المنت‌های حرارتی، 3- کنترل‌کننده سرعت هوا، 4- سیستم کنترل دما، 5- محفظه خشک‌کن و 6- دستگاه مایکروویو).

آن محاسبه شد (Tumuluru et al., 2011). چگالی واحد گزارش شده در این پژوهش میانگین اندازه‌گیری شده برای پنج قرص کروی است.

مقاومت به نفوذ

مقاومت به نفوذ قرص‌های فشرده، توسط آزمون استاندارد پانچری تعیین شدند. این آزمون با استفاده از دستگاه آزمون کشش و فشار مواد غذایی (Zwick/roell، bt1_fr0.5th.d14، آلمان) انجام شد. برای این منظور یک قرص بین یک صفحه تخت و میله نفوذ با قطر 4/5 mm قرار می‌گرفت و با نرخ بارگذاری ثابت 30 mm/min تا هنگام ترک برداشتن و شکستگی نمونه فشرده می‌شد و مقدار نیرو و جابجایی در هر لحظه ثبت می‌شدند. بیشترین نیروی ثبت شده در طی این آزمون به‌عنوان مقاومت به نفوذ نمونه در نظر گرفته شد. مقاومت فشاری نمونه‌ها در سه تکرار اندازه‌گیری شد (ندیم و احمدی، 1395).

ضریب انتشار مؤثر رطوبت

ضریب انتشار مؤثر رطوبت بر اساس قانون دوم فیک در مختصات کروی تعیین شد. برای این منظور، با رسم نمودار لگاریتم طبیعی نسبت رطوبت بر حسب زمان و برازش یک خط به آن و محاسبه شیب این خط (m) و با فرض اینکه چروکیدگی قابل صرف

چروکیدگی

چروکیدگی قرص‌های تولید شده با تعیین حجم نمونه‌ها قبل و بعد از فرآیند خشک‌کردن محاسبه شد. به این ترتیب که برای هر آزمایش قطر سه نمونه قرص کروی (در سه جهت عمود بر هم)، قبل و بعد از خشک‌کردن توسط یک کولیس دیجیتال اندازه‌گیری و میانگین هندسی آن‌ها به‌عنوان قطر نمونه در نظر گرفته شد (احمدی قویدلان و امیری چایجان، 1396). حجم قرص کروی قبل و بعد از فرآیند خشک‌کردن از معادله 2، به‌دست آمد. و در نهایت درصد چروکیدگی از معادله 3، محاسبه شد.

$$V = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{D}{2} \right)^3 \quad (2)$$

$$S = \left(1 - \frac{V_w}{V_d} \right) \times 100 \quad (3)$$

که در این روابط، D میانگین قطر هندسی نمونه‌ها (mm)، S درصد چروکیدگی، V_w و V_d به ترتیب حجم قرص‌های کروی (mm^3) قبل و بعد از فرآیند خشک‌کردن هستند.

چگالی واحد

چگالی واحد هر یک از قرص‌های کروی خشک‌شده با اندازه‌گیری جرم و حجم آنها تعیین شدند. برای این منظور پس از محاسبه حجم قرص کروی و اندازه‌گیری جرم آن توسط یک ترازوی دیجیتال با دقت 0/001 g، چگالی واحد با تقسیم جرم قرص به حجم

انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن پیش‌تیمار مایکروویو از رابطه 6 محاسبه گردید (زرین‌نژاد و امیری چایجان، 1395).

$$SEC_2 = \frac{P_{MW} t}{m_v} \quad (6)$$

که در این رابطه، SEC_2 انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن به شیوه مایکروویو (kJ/kg)، P_{MW} توان مصرف شده مایکروویو (kW) و t زمان اعمال پیش‌تیمار مایکروویو (s) هستند.

بهینه‌سازی فرآیند خشک‌کردن قرص فشرده تولید شده از پودر گوجه‌فرنگی

به‌منظور بررسی آماری اثر متغیرهای مستقل بر متغیرهای پاسخ مورد مطالعه و همچنین تعیین شرایط بهینه فرآیند خشک‌کردن از روش سطح پاسخ به شیوه طرح مرکب مرکزی استفاده شد (احمدی قویدلان و امیری چایجان، 1396). برای این منظور از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت نسخه 10 استفاده شد. شکل کلی معادله مرتبه دوم سطوح پاسخ در رابطه 7 نشان داده شده است.

$$Y = b_0 + \sum_{j=1}^k b_j X_j + \sum_{i < j} \sum b_{ij} X_i X_j + \sum_{j=1}^k b_{jj} X_j^2 \quad (7)$$

که Y پاسخ متغیرهای وابسته مورد مطالعه (ضریب انتشار مؤثر رطوبت، چروکیدگی، انرژی ویژه مصرفی، مقاومت به نفوذ و چگالی واحد)، b_0 عرض از مبدأ، b_{ij} و b_{ii} به ترتیب ضرایب خطی، درجه دو و اثر متقابل رابطه، X_i و X_j متغیرهای مستقل مورد بررسی هستند. جدول 1 و 2 به ترتیب، متغیرهای مستقل به همراه سطوح کدبندی شده آنها و تعداد آزمایش‌ها را نشان می‌دهند.

جدول 1- سطوح کدبندی شده متغیرهای مستقل مورد مطالعه و سطوح آن‌ها

سطوح کدبندی شده متغیرها					نماد	متغیرهای مستقل
2	1	0	-1	-2		
80	70	60	50	40	X_1	دمای هوای ($^{\circ}C$)
2/5	2	1/5	1	0/5	X_2	سرعت هوا (m/s)
16	12	8	4	0	X_3	مدت اعمال مایکروویو (s)

با توجه به مقادیر آماری ارائه شده در جدول 3 مشاهده می‌شود که مقدار ضریب تبیین (R^2) برای تمامی مدل‌های ارائه شده بالاتر از 0/96 و ضریب تغییرات برای تمامی مدل‌ها کمتر از 8/5 بود به جز ضریب انتشار مؤثر رطوبت که مقدار ضریب تغییرات برای آن برابر با 31/75 به دست آمد، بنابراین مقادیر پایین ضریب تغییرات (≈ 8) برای اغلب مدل‌های پیشنهادی در جدول 3 نشان‌دهنده تکرارپذیری خوب این مدل‌ها می‌باشد (Ghasemi et al., 2018). همچنین با توجه به معنی‌دار نشدن فاکتور عدم برازش برای همه متغیرهای مورد بررسی

نظر کردن باشد و توزیع رطوبت درون قرص یکنواخت است، مقدار ضریب انتشار مؤثر رطوبت با استفاده از معادله 4 محاسبه شد.

$$D_{eff} = \frac{mr^2}{\pi} \quad (4)$$

که در این رابطه D_{eff} ضریب انتشار مؤثر رطوبت (m^2/s) و r شعاع قرص فشرده کروی است (زرین‌نژاد و امیری چایجان، 1395).

انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن

انرژی ویژه مصرفی فرآیند خشک‌کردن قرص فشرده به شیوه هوای گرم با پیش‌تیمار مایکروویو، از مجموع انرژی صرف شده برای خشک‌کردن به شیوه همرفتی هوای گرم (SEC_1) و مایکروویو (SEC_2) به دست آمد. انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن به شیوه همرفتی هوای گرم از رابطه 5 محاسبه گردید (زرین‌نژاد و امیری چایجان، 1395).

$$SEC_1 = (C_{pa} + C_{pv} h_a) Q t \frac{(T_{in} - T_{am})}{m_v V_h} \quad (5)$$

که SEC_1 انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن به شیوه همرفتی C_{pv} (kJ/kg)، C_{pa} ظرفیت گرمایی ویژه هوا ($1/8288 kJ/kg^{\circ}C$)، h_a رطوبت مطلق ظرفیت گرمایی ویژه بخار ($1/00416 kJ/kg^{\circ}C$)، t زمان فرآیند خشک هوا ($kg_{vapor}/kg_{dry air}$)، Q دبی هوا (m^3/s)، T_{in} دمای هوای ورودی به اتاقک خشک‌کن ($^{\circ}C$)، T_{am} دمای محیط ($^{\circ}C$)، m_v جرم آب حذف شده از محصول طی فرآیند خشک‌کردن (kg) و V_h حجم ویژه هوا (m^3/kg) هستند.

برای تعیین شرایط بهینه با توجه به اهداف مورد مطالعه، ضریب اهمیت متغیرهای ضریب انتشار مؤثر رطوبت و مقاومت به نفوذ برابر 5 (بیشترین اهمیت)، چروکیدگی و چگالی واحد برابر 3 و انرژی ویژه مصرفی برابر 1 (کمترین اهمیت) انتخاب شدند.

نتایج و بحث

ضرایب معادله رگرسیونی حاصل از روش سطح پاسخ و اطلاعات آماری به دست آمده برای متغیرهای پاسخ در جدول 3 آورده شده است.

به جز ضریب انتشار مؤثر رطوبت، می‌توان گفت که مدل‌های ارائه شده به روش سطح پاسخ به خوبی توانسته‌اند مقدار تغییرات متغیرهای وابسته را پیش‌بینی کنند. با این وجود، معنی‌دار شدن عدم برازش برای ضریب انتشار رطوبت نشان می‌دهد که مدل ریاضی ارائه شده به‌منظور پیش‌بینی دقیق این متغیر پاسخ مناسب نیست.

جدول 2- آزمایش‌های انجام شده برای بررسی اثر متغیرهای پاسخ بر فرآیندهای قرص‌سازی از پودر گوجه‌فرنگی و خشک‌کردن آن‌ها به روش سطح پاسخ

شماره آزمایش	سطوح متغیرهای مستقل (سطوح کدبندی)			تکرار
	دمای هوا (°C)	سرعت هوا (m/s)	مدت اعمال مایکروویو (s)	
1	60 (0)	1/5 (0)	8 (0)	6
2	60 (0)	1/5 (0)	0 (-2)	1
3	50 (-1)	1 (2)	4 (-1)	1
4	80 (2)	1/5 (0)	8 (0)	1
5	50 (-1)	2 (1)	4 (-1)	1
6	70 (1)	1 (-1)	12 (1)	1
7	70 (1)	1 (-1)	4 (-1)	1
8	50 (-1)	1 (-1)	12 (1)	1
9	70 (1)	2 (1)	12 (1)	1
10	50 (-1)	2 (1)	12 (1)	1
11	60 (0)	1/5 (0)	16 (-2)	1
12	70 (1)	2 (1)	4 (-1)	1
13	40 (-2)	1/5 (0)	8 (0)	1
14	60 (0)	2/5 (2)	8 (0)	1
15	60 (0)	0/5 (-2)	8 (0)	1

چروکیدگی

بیشترین مقدار چروکیدگی (25/6%) در شرایط خشک‌کردن دمای هوای 80°C، سرعت هوا 1/5 m/s و مدت اعمال مایکروویو 8 s به دست آمد. کمترین مقدار چروکیدگی (10/5%) نیز تحت شرایط دمای هوای ورودی به محفظه خشک‌کن 40°C، سرعت هوا 1/5 m/s و مدت اعمال مایکروویو 8 s به دست آمد. با توجه به نتایج جدول 3، مشاهده شد که اثر خطی دمای هوا، مدت اعمال مایکروویو و همچنین اثر متقابل و عبارت درجه دوم آنها بر چروکیدگی قرص‌های فشرده‌شده معنی‌دار بودند. شکل 3 اثر متقابل دمای هوای ورودی به محفظه خشک‌کن و مدت اعمال مایکروویو بر چروکیدگی قرص‌های فشرده‌شده گوجه‌فرنگی را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج این شکل مشاهده می‌شود که با افزایش هم‌زمان دمای هوای ورودی و مدت اعمال مایکروویو، مقدار چروکیدگی نیز افزایش یافت، همچنین اثر دما از مدت اعمال مایکروویو بیشتر بود. طی فرآیند خشک‌کردن، خروج آب از بافت محصول با اعمال تنش به دیواره سلولی آن سبب ایجاد چروکیدگی می‌گردد. به دلیل آنکه طی فرآیند خشک‌شدن، آب موجود در دیواره بین سلولی از محصول تبخیر شده و هوا جایگزین آن

می‌شود، در نتیجه بافت قادر به نگه‌داری شبکه ساختمانی نمی‌باشد و ساختمان بیرونی سلول فرومی‌ریزد و چروکیدگی ایجاد می‌شود (زرین‌نژاد و امیری‌چایجان، 1395). به‌طورکلی، حرارت‌دهی و حذف رطوبت از ماده غذایی با ایجاد گرادیان‌های دمایی و رطوبتی درون محصول سبب ایجاد تغییر شکل و اندازه محصول می‌گردد. مایع موجود در دیواره سلولی مواد بیولوژیکی، فشاری را بر دیواره سلول وارد می‌کند که به آن فشار ترگر¹ می‌گویند که سبب فشرده شدن مایع درون سلول می‌گردد. در طی فرآیند خشک‌شدن با خروج آب از سلول، نیروی کششی که آب بر دیواره سلول وارد می‌کند کاسته شده و همین کاهش کشش سبب چروکیدگی شدن ماده می‌گردد (احمدی قوی‌دلان و امیری‌چایجان، 1396). بیشترین درصد چروکیدگی در ابتدای فرآیند خشک‌شدن که نرخ تبخیر آب بالا می‌باشد رخ می‌دهد. به‌منظور جلوگیری از ایجاد گرادیان‌های شدید حرارتی و رطوبتی درون محصول که منجر به ایجاد چروکیدگی محصول می‌گردند،

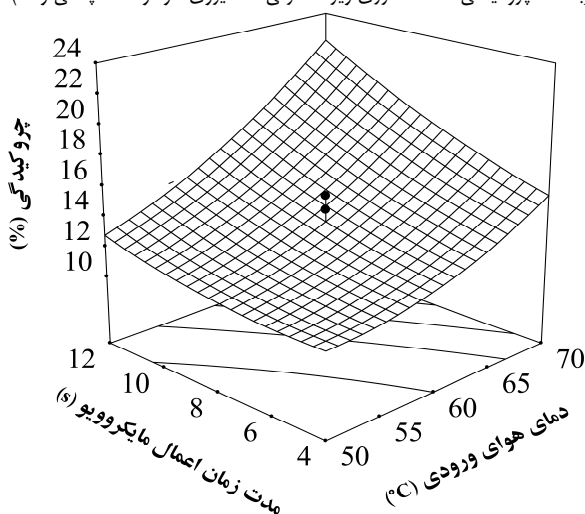
¹ Turgor

دماهای پایین خشک‌کردن به منظور جلوگیری از ایجاد چروکیدگی درون محصول توصیه می‌گردد (Artanaseaw et al., 2010).

جدول 3- ضرایب مدل برازش شده به معادله رگرسیونی درجه دوم برای متغیرهای پاسخ (X_1 دمای هوا، X_2 سرعت هوا و X_3 مدت اعمال مایکروویو در توان ثابت 90 W)

منابع تغییرات					ضرایب مدل
					UD (g/cm ³)
					Pt (N)
					SEC (GJ/kg)
					S (%)
					D _{eff} (m ² /s)
عرض از مبدأ (b ₀)					+4/53×10 ⁻⁹
عبارت خطی (b ₁) X ₁					+2/55×10 ^{-8a}
(b ₂) X ₂					+4/54×10 ^{-11ns}
(b ₃) X ₃					+1/33×10 ^{-8a}
اثر متقابل (b ₁₂) X ₁ X ₂					-2/04×10 ^{-10ns}
(b ₁₃) X ₁ X ₃					+1/31×10 ^{-8a}
(b ₂₃) X ₂ X ₃					-1/44×10 ^{-10ns}
عبارت درجه دوم (b ₁₁) X ₁ ²					+1/18×10 ^{-8a}
(b ₂₂) X ₂ ²					+1/80×10 ^{-10ns}
(b ₃₃) X ₃ ²					+6/83×10 ^{-9a}
Lack of Fit (P-value)					0/0046 ^a
Model (P-value)					0/0001 ^a
R ²					0/98
C.V. (%)					3/75
Std. Dev.					6/22×10 ⁻⁹

a بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 0/001، b اختلاف معنی‌دار در 1%، c اختلاف معنی‌دار در 5% و ns عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشند. (D_{eff} ضریب انتشار مؤثر رطوبت، S چروکیدگی، SEC انرژی ویژه مصرفی، Pt نیروی نفوذ و UD چگالی واحد).

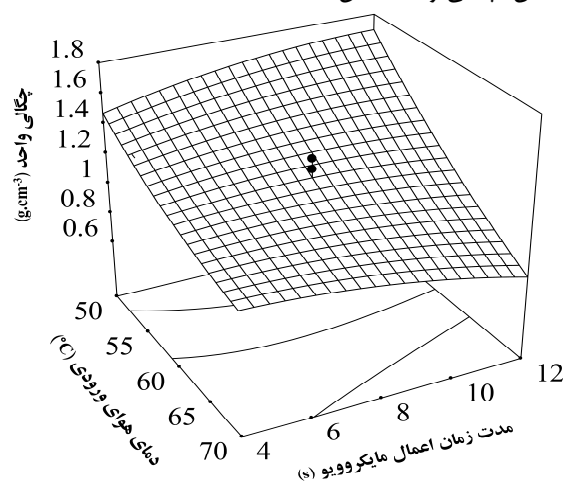


شکل 3- اثر متقابل دمای هوای ورودی به محفظه خشک‌کن و مدت اعمال مایکروویو بر چروکیدگی قرص‌های فشرده‌شده گوجه‌فرنگی.

چگالی واحد

بیشترین و کمترین مقدار چگالی واحد برای قرص فشرده شده به ترتیب برابر با $2/2$ و $0/75 \text{ g/cm}^3$ به دست آمد. نتایج تجزیه واریانس (جدول 3)، نشان داد که اثر خطی دمای هوای ورودی و سرعت هوا، اثر متقابل دمای هوای ورودی و مدت اعمال میکروویو و عبارت درجه دوم دمای هوای ورودی و مدت اعمال میکروویو بر چگالی واحد قرص فشرده گوجه فرنگی معنی دار بودند. شکل 4، اثر متقابل دمای هوای ورودی و مدت اعمال میکروویو بر چگالی واحد قرص فشرده گوجه فرنگی را نشان می دهد. همان طور که از نتایج قابل مشاهده است، با افزایش دمای هوای خشک کن، چگالی واحد کاهش

یافت. دلیل احتمالی برای کاهش چگالی واحد با افزایش دما را می توان افزایش تجزیه بیشتر مواد مغذی موجود در قرص های فشرده با افزایش دما دانست که منجر به کاهش بیشتر وزن خشک آنها می گردد. یک دلیل احتمالی دیگر آن است که استفاده همزمان از انرژی حرارتی و میکروویو سبب حذف سریع تر محتوای رطوبتی سطح نمونه شده و در نتیجه با افزایش گرادیان های محتوای رطوبتی سبب افزایش ترک های ریز درون نمونه می گردد، این ترک های ریز باعث ایجاد تغییرات حجم در محصول شده و در نتیجه چگالی واحد را کاهش می دهند (Ghasemi and Amiri Chayjan, 2018).

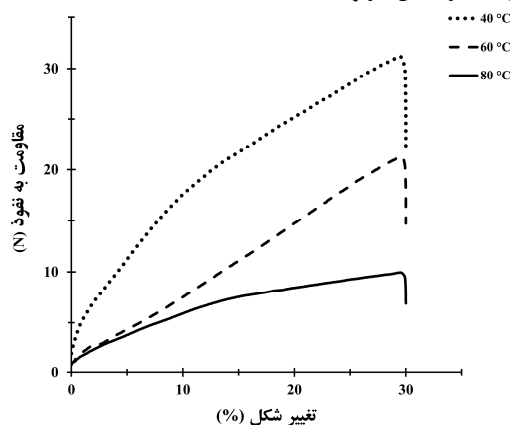


شکل 4- اثر متقابل دمای هوا و مدت زمان میکروویو بر چگالی واحد قرص های فشرده شده گوجه فرنگی.

قرص فشرده گوجه فرنگی، خشک شده در دماهای 40، 60 و 80°C سرعت هوای $1/5 \text{ m/s}$ و مدت زمان میکروویو 8 s را طی آزمون پانچری نشان می دهد.

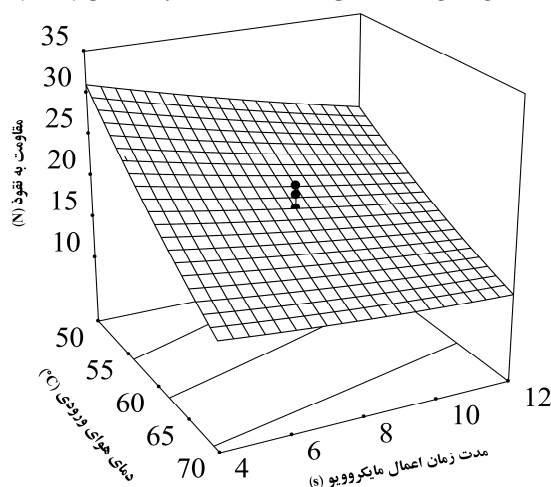
مقاومت به نفوذ

نتایج آزمون پانچری قرص فشرده گوجه فرنگی نشان داد که در نمودار نیرو- تغییر شکل آن می توان قسمت خطی و نقطه شکست را از هم تمیز داد. شکل 5 نمودار تغییرات نیرو- تغییر شکل مربوط به



شکل 5- نمودار نیرو- تغییر شکل قرص کروی شکل گوجه فرنگی، خشک شده در دماهای 40، 60 و 80°C ، سرعت هوای $1/5 \text{ m/s}$ و مدت زمان میکروویو 8 s طی آزمون پانچری.

و رطوبتی وارد شده به نمونه به دلیل افزایش دما دانست، زیرا این تنش‌ها سبب ایجاد ترک‌های ریز در بافت محصول شده و منجر به کاهش استحکام و انسجام بافت سلولی و انرژی مورد نیاز برای محصول می‌گردند. طی فرآیند خشک شدن به شیوه هوای گرم با پیش‌تیمار مایکروویو با اعمال انرژی بالای مایکروویو به سطح محصول از آنجایی که رطوبت سطحی با سرعت بیشتری حذف می‌گردد، بنابراین گرادیان‌های محتوای رطوبتی بالاتری درون محصول ایجاد می‌گردد. همچنین با افزایش دما، مقدار این گرادیان‌ها نیز بیشتر می‌گردد. این گرادیان‌های رطوبتی عامل ایجاد ترک‌های سطحی در قرص هستند و سبب کاهش نیروی نفوذ قرص‌ها می‌گردند. این نتایج با نتایج به‌دست‌آمده سالک و قنبریان (1395) و Burubai و همکاران (2007) مطابقت دارد.



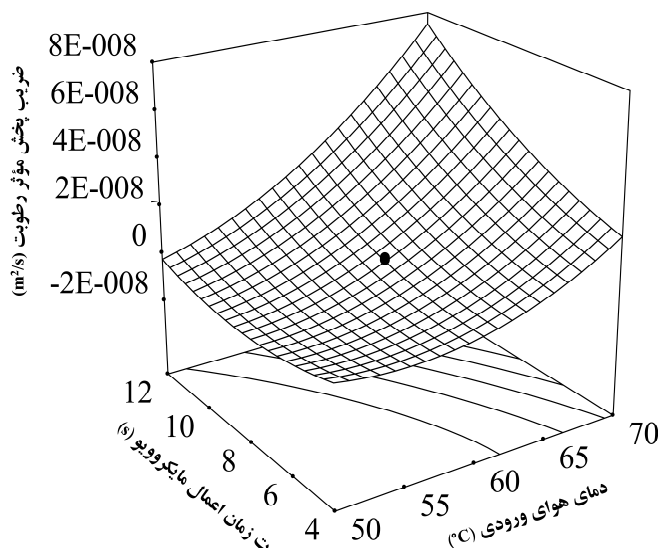
شکل 6- اثر متقابل دمای هوا و مدت اعمال مایکروویو بر نیروی نفوذ قرص‌های فشرده‌شده گوجه‌فرنگی.

مؤثر رطوبت معنی‌دار بود. شکل 7، اثر متقابل دمای هوای خشک کردن و مدت زمان مایکروویو بر ضریب انتشار مؤثر رطوبت را نشان می‌دهد. همان‌طور که از نتایج این شکل مشاهده می‌گردد هر دو عامل دمای خشک کردن و مدت زمان مایکروویو بر ضریب انتشار مؤثر رطوبت اثر مثبت داشتند، به‌طوری‌که با افزایش هم‌زمان آنها، مقدار ضریب انتشار مؤثر رطوبت افزایش یافت. دلیل این امر را می‌توان، افزایش نرخ تبخیر رطوبت از محصول در اثر افزایش انرژی حرارتی زمان شده به آن دانست. همچنین افزایش مدت زمان مایکروویو با بالا بردن انرژی جنبشی بین مولکول‌های آب منجر به افزایش ضریب انتشار مؤثر رطوبت شد (امیری چایجان و همکاران، 1396).

بیشترین مقدار مقاومت به نفوذ برابر با $31/2$ N برای قرص‌های خشک شده تحت دمای 40°C سرعت هوا $1/5$ m/s و مدت زمان مایکروویو 8 s به دست آمد و همچنین کمترین مقدار آن برابر با $9/9$ N برای قرص‌های خشک شده در دمای 80°C ، سرعت هوا $1/5$ m/s و مدت اعمال مایکروویو 8 s به‌دست آمد. نتایج تجزیه واریانس (جدول 3)، نشان داد که اثرات خطی دمای هوا و مدت زمان مایکروویو، اثر متقابل و درجه دوم آنها بر مقاومت به نفوذ قرص‌های گوجه‌فرنگی معنی‌دار بودند. شکل 6، اثر متقابل دمای هوا و مدت زمان مایکروویو بر نیروی نفوذ به قرص‌های فشرده را نشان می‌دهد. از نتایج این شکل مشاهده می‌شود که با افزایش هم‌زمان دمای خشک کردن و مدت زمان پیش‌تیمار مایکروویو، مقدار مقاومت به نفوذ کاهش یافت. دلیل این امر را می‌توان افزایش تنش‌های حرارتی

ضریب انتشار مؤثر رطوبت

کمترین مقدار ضریب انتشار مؤثر رطوبت قرص فشرده برابر با $3/1 \times 10^{-11}$ m²/s تحت شرایط خشک کردن در دمای 40°C ، سرعت هوا $1/5$ m/s و مدت زمان مایکروویو 8 s و بیشترین مقدار آن برابر با $9/4 \times 10^{-8}$ m²/s در دمای 80°C ، سرعت هوا $1/5$ m/s و مدت زمان مایکروویو 8 s به‌دست آمد. طی پژوهشی روی فرآیند خشک کردن ورقه‌های گوجه‌فرنگی در سطوح دمایی 40 ، 50 ، 70 و 80°C و اعمال سه سطح توان مایکروویو $1/13$ ، $2/08$ و $3/11$ W/g، مقدار ضریب انتشار مؤثر رطوبت بین $1/68 \times 10^{-9}$ تا $5/22 \times 10^{-8}$ m²/s گزارش شد (Workneh & Oke, 2013). با توجه به نتایج جدول 3، اثر خطی دمای هوای خشک کردن و مدت زمان مایکروویو و همچنین اثر متقابل و درجه دوم آن‌ها بر ضریب انتشار



شکل 7- اثر متقابل دمای هوای ورودی به محفظه خشک‌کن و مدت زمان مایکروویو بر ضریب انتشار مؤثر رطوبت قرص‌های فشرده‌شده گوجه‌فرنگی.

انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن

بیشترین و کمترین انرژی ویژه مصرفی به ترتیب در شرایط خشک‌کردن با دمای 40 و 80°C با سرعت هوای 1/5 m/s تحت شرایط زمان مایکروویو 8 s به دست آمد. با توجه به نتایج جدول 3 مشاهده شد که تأثیر خطی متغیرهای دمای هوا، سرعت هوا، همچنین اثر متقابل دمای هوا و سرعت هوا و اثر متقابل دمای هوا و مدت زمان مایکروویو و عبارت‌های درجه دوم همه مورد متغیرهای مورد بررسی بر انرژی مصرفی ویژه خشک‌کردن معنی‌دار بودند. شکل‌های 8 الف و 8 ب به ترتیب اثر متقابل دمای هوا و سرعت هوا و اثر متقابل دما و مدت زمان مایکروویو بر انرژی ویژه مصرفی خشک کردن قرص‌های فشرده را نشان می‌دهند. همان‌طور که انتظار می‌رفت با افزایش دمای هوا و سرعت هوا به دلیل آن که زمان فرآیند خشک شدن کاهش می‌یابد، مقدار انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن نیز کاهش یافت. افزایش مدت زمان مایکروویو، مقدار انرژی مصرفی را در همه تیمارهای مورد آزمایش کاهش داد، با این وجود، افزایش دمای هوا نسبت به افزایش مدت زمان مایکروویو تأثیر بیشتری بر کاهش انرژی مصرفی خشک‌کردن داشت. از این رو افزایش دمای هوای خشک‌کردن علاوه بر کاهش مصرف انرژی با کاهش زمان خشک‌کردن سبب افزایش ظرفیت تولید محصول می‌گردد، هرچند ممکن است افزایش دما سبب افت ویژگی‌های کیفی محصول و بازپسندی آن گردد. انرژی ویژه مصرفی، تابع عوامل مختلفی مانند دمای هوا، سرعت هوا، گرمای ویژه هوا و گرمای نهان تبخیر آب می‌باشد. در دمای هوا و مدت زمان اعمال پیش تیمار مایکروویو، آب آزاد محصول سریع تر تبخیر شده و زمان خشک‌شدن به طور قابل

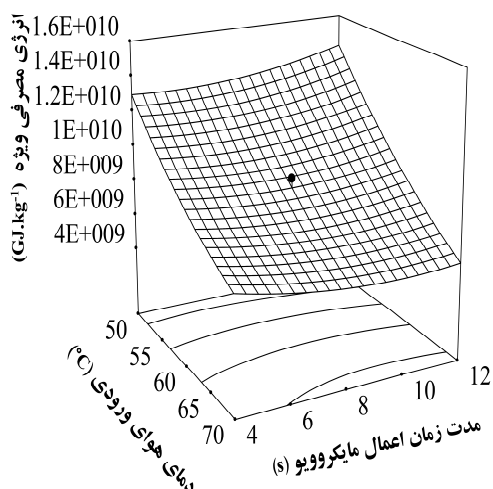
ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد و در اثر کاهش زمان خشک‌شدن، انرژی مصرفی کل کاهش می‌یابد. در حالت کلی، با افزایش دمای هوا و مدت زمان اعمال مایکروویو در سرعت هوای ثابت، انرژی مصرفی کل کاهش یافت. با ثابت نگه‌داشتن دمای هوا و افزایش مدت زمان اعمال مایکروویو، مقدار انرژی مصرفی کاهشدهنده بود که تأثیر آن در دمای 60°C حداکثر بود. تأثیر توان مایکروویو بر کاهش مصرف انرژی در محدوده 8 تا 16 ثانیه نسبت به محدوده صفر تا 8 ثانیه بیشتر بود. که این امر به دلیل این است که تأثیر مدت زمان اعمال مایکروویو بر انرژی مصرفی بسیار بیشتر می‌باشد. در مدت زمان مایکروویو بیشتر، آب آزاد محصول سریع تر تبخیر شده و زمان خشک شدن به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد و در اثر کاهش زمان خشک شدن، انرژی مصرفی کل کاهش می‌یابد. Kantrong و همکاران (2014) در خشک کردن قارچ، صفری و همکاران (1395) در خشک کردن بادام و احمدی قویدلان و چایجان (1396) در خشک کردن مغز فندق به نتایج مشابهی دست یافتند.

شرایط بهینه خشک‌کردن قرص فشرده تولید شده از پودر گوجه‌فرنگی

به منظور بهینه‌سازی هم‌زمان متغیرهای پاسخ از روش سطح پاسخ و تابع مطلوبیت استفاده شد. کمترین و بیشترین مقادیر به دست آمده از آزمایش‌ها و ضریب اهمیت آن‌ها برای متغیرهای پاسخ مورد بررسی در جدول 4 آورده شده‌اند. با استفاده از روش سطح پاسخ و تابع مطلوبیت، دو نقطه بهینه با شاخص مطلوبیت بیشتر از 0/92 برای انجام فرآیند خشک‌کردن قرص فشرده گوجه‌فرنگی تعیین

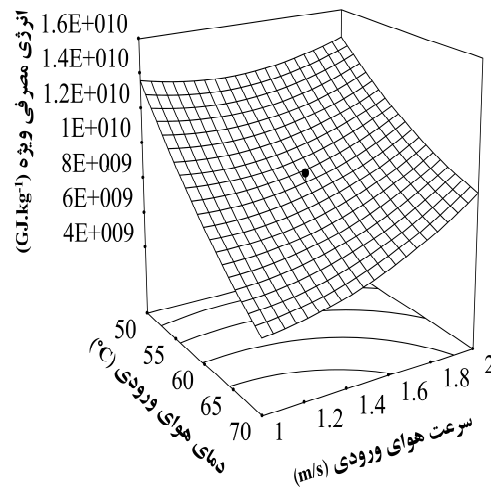
چروکیدگی، انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن، مقاومت به نفوذ و چگالی واحد به ترتیب برابر با $2/76 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ ، $10/56\%$ ، $321/53 \text{ N}$ و $1/35 \times 10^{10} \text{ kJ/kg}$ به دست آمدند. نتایج نشان داد که خشک‌کردن تحت شرایط ملایم‌تر (دمای پایین‌تر و زمان کمتر مایکروویو) سبب افزایش شاخص مطلوبیت گردید.

(ب)



شده که در جدول 5، ارائه شده است. نتایج به دست آمده از جدول 5 نشان می‌دهد که مطلوب‌ترین حالت برای قرص‌های فشرده گوجه‌فرنگی در شرایط خشک‌کردن هوای گرم در دمای 50°C ، سرعت هوا 1 m/s و با اعمال پیش تیمار مایکروویو به مدت 4 s در توان 90 W به دست آمد. تحت این شرایط، شاخص مطلوبیت $0/93$ بود و مقدار بهینه متغیرهای مستقل شامل ضریب انتشار مؤثر رطوبت،

(الف)



شکل 8- الف) اثر متقابل دمای هوا و سرعت هوا بر انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن قرص‌های فشرده تولید شده از پودر گوجه‌فرنگی و ب) اثر متقابل دمای هوا و مدت زمان مایکروویو بر انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن قرص‌های فشرده

جدول 4- محدوده متغیرهای پاسخ و ضریب اهمیت آنها جهت بهینه‌سازی فرآیند خشک‌کردن قرص گوجه‌فرنگی به روش سطح پاسخ

متغیرهای پاسخ	هدف	کمترین مقدار	بیشترین مقدار	ضریب اهمیت
ضریب انتشار مؤثر رطوبت (m^2/s)	بیشینه	$3/11 \times 10^{-11}$	$9/4 \times 10^{-8}$	5
چروکیدگی (%)	کمینه	10/38	25/6	3
انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن (kJ/kg)	کمینه	$3/57 \times 10^9$	$1/96 \times 10^{10}$	1
مقاومت به نفوذ (N)	بیشینه	9/01	35/04	5
چگالی واحد (g/cm)	بیشینه	0/75	2/19	3

جدول 5- مقادیر پیش‌بینی شده متغیرهای وابسته و مستقل به روش سطح پاسخ در شرایط بهینه فرآیند خشک‌کردن قرص فشرده

شماره	دما ($^\circ\text{C}$)	سرعت هوا (m/s)	مدت زمان مایکروویو (s)	ضریب انتشار مؤثر رطوبت (m^2/s)	چروکیدگی (%)	انرژی ویژه مصرفی خشک‌کردن (kJ/kg)	مقاومت به نفوذ (N)	چگالی واحد (g/cm)	شاخص مطلوبیت
1	50	1	4	$2/76 \times 10^{-9}$	10/56	$1/35 \times 10^{10}$	32/53	1/55	0/930
2	50	1	4/5	$4/21 \times 10^{-9}$	10/53	$1/35 \times 10^{10}$	31/91	1/54	0/924

نتایج زیر از این پژوهش قابل استنتاج هستند: اثر دمای هوا و مدت زمان پیش تیمار مایکروویو بر همه متغیرهای پاسخ قرص فشرده گوجه‌فرنگی در خشک‌کن هوای گرم با پیش تیمار مایکروویو معنی‌دار

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش‌های خشک‌کردن قرص فشرده گوجه‌فرنگی به شیوه هوای گرم با اعمال پیش تیمار مایکروویو

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه بوعلی سینا که در تأمین مالی هزینه‌های این پژوهش ما را یاری نمودند و همچنین جناب آقای دکتر ابراهیم احمدی عضو هیئت علمی گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم دانشگاه بوعلی سینا که در انجام این پژوهش با ما همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

بود. افزایش دما و زمان پیش تیمار مایکروویو سبب افزایش ضریب انتشار مؤثر رطوبت و چروکیدگی محصول نهایی گردید. دمای هوای ورودی به خشک کن بر مقاومت به نفوذ، چگالی واحد و انرژی ویژه مصرفی فرآیند خشک کردن اثر منفی داشت. خشک کردن تحت شرایط دمایی پایین تر و زمان کمتر پیش تیمار مایکروویو سبب افزایش شاخص مطلوبیت فرآیند خشک کردن گردید.

منابع

- احمدی قویدلان، م و امیری چایجان، ر. (1396). استفاده از روش سطح پاسخ جهت بهینه سازی خشک کردن فندق در بسترسیال مادون قرمز. پژوهش های صنایع غذایی، 26(4): 639-657.
- احمدی قویدلان، م و امیری چایجان، ر. (1396). بهینه سازی خشک کردن مغز فندق در خشک کن مادون قرمز با پیش تیمار مایکروویو به کمک روش سطح پاسخ. علوم و صنایع غذایی ایران، 14(64): 165-178.
- خاکباز حشمتی، م و سیفی مقدم، ا. (1396). بررسی تکنیک متناوب مایکروویو-هوای گرم بر خواص کیفی و تغذیه ای برگه های کیوی خشک شده. پژوهش های صنایع غذایی، 27(1): 111-126.
- زرین نژاد، م و امیری چایجان، ر. (1395). تعیین شرایط بهینه فرآیند خشک کردن پسته در خشک کن مایکروویو بستر سیال. مجله علوم و صنایع غذایی، 13(57): 13-24.
- سالک، ف و قنبریان، د. (1395). اثر دما و رطوبت بر برخی از ویژگی های مکانیکی دانه سویا تحت بارگذاری شبه استاتیک. نشریه پژوهش های صنایع غذایی، 4(26): 714-705.
- صفری، م، امیری چایجان، ر و علائی، ب. (1396). مدل سازی برخی خواص حرارتی و فیزیکی مغز بادام در خشک کن خلائی مادون قرمز با پیش تیمار مایکروویو. مهندسی زراعی، 39(1): 21-37.
- ندیم، ز و احمدی، ا. (1395). بررسی برخی خواص رئولوژیکی توت فرنگی پوشش دهی شده با متیل سلولز. ماشین های کشاورزی، 6(1): 153-162.
- Adiba, B. D., Salem, B., Nabil, S., & Abdelhakim, M. (2011). Preliminary characterization of food tablets from date (*Phoenix dactylifera* L.) and spirulina (*Spirulina* sp.) powders. *Powder Technology*, 208(3), 725-730.
- And, G. L., & Barrett, D. M. (2006). Influence of Pre-drying Treatments on Quality and Safety of Sun-dried Tomatoes. Part I: Use of Steam Blanching, Boiling Brine Blanching, and Dips in Salt or Sodium Metabisulfite. *Journal of Food Science*, 71(1), S24-S31.
- Artanaseaw, A., Theerakulpisut, S., Benjapiyaporn, C. 2010. Development of a vacuum heat pump dryer for drying chilli. *Biosystems engineering*, 105(1), 130-138.
- Aziz, M., Yusof, Y., Blanchard, C., Saifullah, M., Farahnaky, A., & Scheiling, G. (2018). Material Properties and Tableting of Fruit Powders. *Food Engineering Reviews*, 1-15.
- Burubai, W., Akor, A., Igoni, A., Uyate, Y. 2007. Effects of temperature and moisture content on the strength properties of African nutmeg (*Monodora myristica*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13(6), 703.
- da Silva, L. B., Queiroz, M. B., Fadini, A. L., da Fonseca, R. C., Germer, S. P., & Efraim, P. (2016). Chewy candy as a model system to study the influence of polyols and fruit pulp (açaí) on texture and sensorial properties. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 268-274.
- Demiray, E., Tulek, Y., & Yilmaz, Y. (2013). Degradation kinetics of lycopene, β -carotene and ascorbic acid in tomatoes during hot air drying. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 172-176.
- Figiel, A. (2010). Drying kinetics and quality of beetroots dehydrated by combination of convective and vacuum-microwave methods. *Journal of Food Engineering*, 98(4), 461-470.
- Ghasemi, A., & Chayjan, R. A. (2018). Optimization of Pelleting and Infrared-Convection Drying Processes of Food and Agricultural Waste Using Response Surface Methodology (RSM). *Waste and Biomass Valorization*, 1-19.
- Kantrong, H., Tansakul, A., & Mittal, G. S. (2014). Drying characteristics and quality of shiitake mushroom undergoing microwave-vacuum drying and microwave-vacuum combined with infrared drying. *Journal of food science and technology*, 51(12), 3594-3608.
- Liu, F., Cao, X., Wang, H., & Liao, X. (2010). Changes of tomato powder qualities during storage. *Powder Technology*, 204(1), 159-166.
- Marfil, P., Santos, E., & Telis, V. (2008). Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 41(9), 1642-1647.

- Nualkaekul, S., Deepika, G., & Charalampopoulos, D. (2012). Survival of freeze dried *Lactobacillus plantarum* in instant fruit powders and reconstituted fruit juices. *Food research international*, 48(2), 627-633.
- Ong, M., Yusof, Y., Aziz, M., Chin, N., & Amin, N. M. (2014). Characterisation of fast dispersible fruit tablets made from green and ripe mango fruit powders. *Journal of Food Engineering*, 125, 17-23.
- Purkayastha, M. D., Nath, A., Deka, B. C., & Mahanta, C. L. (2013). Thin layer drying of tomato slices. *Journal of food science and technology*, 50(4), 642-653.
- Samuelsson, R., Larsson, S. H., Thyrel, M., & Lestander, T. A. (2012). Moisture content and storage time influence the binding mechanisms in biofuel wood pellets. *Applied energy*, 99, 109-115.
- Shamsudin, I., Anuar, M., & Tahir, S. (2012). Compaction of sweet potato (*Ipomoea Batatas* L.) and stevia rebaudiana food powders. *Particulate Science and Technology*, 30(2), 136-144.
- Śledź, M., Nowacka, M., Wiktor, A. & Witrowa-Rajchert, D. (2013). Selected chemical and physico-chemical properties of microwave-convective dried herbs. *Food and Bioproducts Processing*, 91(4), 421-428.
- Tumuluru, J. S., Wright, C. T., Hess, J. R., & Kenney, K. L. (2011). A review of biomass densification systems to develop uniform feedstock commodities for bioenergy application. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 5(6), 683-707.
- Widodo, R. T., & Hassan, A. (2015). Compression and mechanical properties of directly compressible pregelatinized sago starches. *Powder Technology*, 269, 15-21.
- Wongsiriamnuay, T., & Tippayawong, N. (2015). Effect of densification parameters on the properties of maize residue pellets. *Biosystems Engineering*, 139, 111-120.
- Workneh, T. S., & Oke, M. O. (2013). Thin layer modelling of microwave-convective drying of tomato slices. *International journal of food engineering*, 9(1), 75-90.
- Yusof, Y., Mohd Salleh, F., Chin, N., & Talib, R. (2012). The drying and tableting of pitaya powder. *Journal of Food Process Engineering*, 35(5), 763-771.
- Zarein, M., Samadi, S. H., & Ghobadian, B. (2015). Investigation of microwave dryer effect on energy efficiency during drying of apple slices. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 14(1), 41-47.
- Zea, L. P., Yusof, Y. A., Aziz, M. G., Ling, C. N., & Amin, N. A. M. (2013). Compressibility and dissolution characteristics of mixed fruit tablets made from guava and pitaya fruit powders. *Powder technology*, 247, 112-119.
- Zhang, Z., Song, H., Peng, Z., Luo, Q., Ming, J., & Zhao, G. (2012). Characterization of stipe and cap powders of mushroom (*Lentinus edodes*) prepared by different grinding methods. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 406-413.

Optimization of tomato compressed tablet production based on physical, mechanical and thermal properties in a hot air condition with microwave pretreatment

M. Rashidi¹, R. Amiri Chayjan^{2*}, A. Ghasemi³

Received: 2019.01.28

Accepted: 2019.06.11

Introduction: Tomato is one of the most valuable sources of minerals and vitamins supply in the human diet. Low shelf life of tomato and its short shelf life with inadequate processing facilities lead to heavy financial losses. Therefore, preserving and processing of tomato are of the commercial importance. Drying is one of the preferred methods for tomato preservation. Dried tomato products including half tomatoes, tomato slices and tomato powder, have many consumptions, compared with other tomato products. Among dried tomato products, tomato powder has a particular market. Powder production is an alternative method to extend the shelf life of foods. Usually the fruit powder is very dry, humidity absorber and has too much volume. Therefore, during storage, transportation and administration, it requires special care and heavy packaging which increase the cost. To overcome these problems, compression of the fruit powder in tablet form could be a proper solution. Tablet making of fruit powder has gained much popularity due to its ease of use, storage, transportation and product formulation. After the tablet making process, the pills contain high moisture content which makes them unsuitable for transportation and storage. So, in order to prevent the tablets corruption and maintain their quality, tablet drying is one of the important steps after the tablet making process. The drying process is an important operation that affects the quality and final price of the product. Different drying methods play an important role in protecting foodstuffs. However, the effect of different drying methods on the quality of some foodstuffs is not clear.

Materials and methods: In this research, after the preparation of fresh tomatoes, the primary moisture content of tomatoes was determined using hot air oven method. Then, using blanching method, the tomatoes were peeled and samples were cut using a sharp razor in thicknesses of 3 mm. Tomato slices were dried using a semi-industrial dryer in a hot air at 50 °C at an air speed of 1 m/s. Dried tomato slices were powdered using a grinder. In order to homogenize the particle size, the tomato powder was sieved by a 50 mesh (Cavity size 0.5 mm) sample. Suitable moisture content to create sufficient adhesion between the particles of tomato powder was selected at %23 d.b. Water and fructose were used as a bonding agent. The process of producing tomato spherical tablets was performed by a hydraulic press. Drying tests of wet compressed tablets were performed immediately after the end of the tableting process using a hot air drying machine with microwave pre-treatment. In this study, the effect of drying variables, through using of microwave pre-treatment along with hot air, including air temperature in five levels (40, 50, 60, 70 and 80 °C), air velocity at five levels (0.5, 1, 1.5, 2, and 2.5 m/s) and the duration of microwave application at five levels (zero (without microwave), 4, 8, 12, and 16 s) on physical properties (shrinkage and unit density), mechanical (penetration resistance) and thermal (Effective moisture diffusivity and energy consuming drying) of compact pomegranate produced from tomato powder were studied. Statistical analysis of data and optimization of drying process were performed using response surface method and central composite design.

Results and discussion: Results showed that effect of air temperature and duration of microwave pretreatment on all variables of compressed tomato tablets were significant in hot air dryers with microwave pre-treatment. Increasing temperature and time of microwave pre-treatment increased the effective moisture diffusivity and shrinkage of the final product. The temperature of the air inlet to the dryer had a negative effect on the resistance to penetration, the unit density and the specific energy consumption of the drying process. Drying under lower temperature conditions and less time for microwave pre-treatment resulted in an increase in the desirability of the drying process.

Key words: Optimization, Microwave pretreatment, Tomato compressed tablet, Drying.

1 MSc Student, Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

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

3 PhD Student, Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

*Corresponding Author E-Mail Address: amirireza@basu.ac.ir)

برهمکنش خاصیت ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی ریحان (*Ocimum basilicum*).

مریم گلی (*Salvia officinalis*) و دارچین در دوغ

هاجر شهسوار¹ - مرضیه بلندی^{2*} - هما بقایی³

تاریخ دریافت: 1398/01/30

تاریخ پذیرش: 1398/03/12

چکیده

عصاره‌های گیاهی دارای خاصیت ضد میکروبی بوده و می‌توانند به‌عنوان یک طعم‌دهنده، جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد غذایی شوند. در این پژوهش اثر هم‌افزایی خاصیت ضد میکروبی ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی سه گیاه ریحان، دارچین و مریم‌گلی بر روی سوبه‌های غذایی / اشریشیاکلا، استافیلوکوکوس اورئوس و مخمر ساکارومایسس سرویزیه در محیط دوغ در طی 4 هفته نگهداری در دمای محیط بررسی شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های مورد آزمایش به‌صورت تکی بین 1/60 تا 12/5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی ترکیب هر سه عصاره بین 0/4 تا 3/12 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین ترکیب هر سه عصاره ریحان، دارچین و مریم‌گلی بر علیه هر سه باکتری اثر هم‌افزایی داشت و در تمام حالات ترکیب عصاره‌ها اثرات رقابت‌کنندگی مشاهده نشد. ترکیب هر یک از عصاره‌های فوق‌الذکر با غلظت 0/62 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با یکدیگر، به‌صورت معنی‌داری منجر به کاهش جمعیت میکروبی به ویژه باکتری‌های گرم مثبت شد ($p < 0/05$). همچنین پذیرش کلی دوغ حاوی ترکیب هر سه عصاره مورد بررسی قابل قبول ارزیابی شد و حدود 90 درصد شرکت‌کنندگان حاضر به مصرف آن بودند. بنابراین کاربرد همزمان این عصاره‌ها می‌تواند در کنترل مؤثر بیماری‌زاهای مواد غذایی به‌عنوان یک روش مکمل مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اثر ضد میکروبی دارچین، ریحان، مریم‌گلی، هم‌افزایی

مقدمه

استانداردها در هنگام تولید، نقص زنجیره سرما حین توزیع و نگهداری دوغ زمینه را برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها و به‌دنبال آن کاهش زمان ماندگاری دوغ فراهم می‌کند (Tamime et al., 1999). به دلیل امکان آلودگی‌های مختلف در دوغ معمولاً از افزودنی‌هایی مانند بنزوات سدیم، سوربات پتاسیم و نیز ناتامایسین استفاده می‌شود. براساس قوانین سازمان غذا و دارو استفاده از هرگونه نگهدارنده در دوغ ممنوع است (ISIRI, 2007). مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) گیاهی چندساله و از تیره نعنائیان⁴ است و رویش‌گاه اصلی آن ایران می‌باشد (Haghjoo et al., 2016). این گیاه حاوی تانن‌های گروه کاتشین⁵ (سالویا⁶ تانن)، فلاونوئیدها⁷ (اپی‌ژنین⁸، لوتئولین⁹)، اسانس‌های فرار (سینئول¹⁰، کامفور¹¹، آلفا و بتاتوجون¹²)، مواد گلیکوزیدی¹، توکوفرول، اسیدروزمارینیک² و

نگهدارنده‌ها ترکیباتی هستند که برای جلوگیری از رشد و یا از بین بردن میکروارگانیسم‌های مضر به‌منظور افزایش دوره ماندگاری مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در مطالعات انجام شده در دنیا اثرات نامطلوب این مواد از جمله سرطان‌زایی، سمیت، ایجاد مقاومت در میکروارگانیسم‌ها، جهش‌زایی، آلرژی و برخی مشکلات دیگر به‌عنوان چالشی در سلامت جوامع تأیید شده است (Heinrich et al., 2012). امروزه استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی حاصل از گیاهان دارویی به‌دلیل سازگاری بیشتر با بدن از یکسو و دارا بودن ترکیبات فرار مولد طعم از سوی دیگر در حال افزایش است (Celiktas 2007). همچنین خاصیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی این افزودنی‌های طبیعی به اثبات رسیده است (Tajkarimi et al., 2010). از جمله ویژگی‌های سلامت بخشی دوغ می‌توان به حضور ویتامین‌های گروه B، بهبود جذب کلسیم و قابلیت هضم بیشتر نسبت به شیر اولیه اشاره کرد. عدم رعایت

4 Lamiaceae

5 Catechin

6 Salvia

7 Flavonoid

8 Apigenin

9 Luteolin

10 Cineol

11 Camphor

12 Thujone

1 و 2 - به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه علوم و

صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران.

(*) نویسنده مسئول: (Email: M.Bolandi@Damghaniau.ac.ir)

DOI: 10.22067/food.v16i1.80162

دوغ تاکنون مطالعه‌ای صورت نگرفته است این مطالعه با هدف بررسی اثر هم‌افزایی خاصیت ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی سه گیاه ریحان، دارچین و مریم گلی روی *اشرشیاکلاسی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و نیز مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* در جهت ماندگاری بیشتر دوغ در دمای محیط صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه دوغ

شیر خریداری شده از بازار مصرف، در آزمایشگاه جامع دانشگاه علوم پزشکی شاهرود در شرایط بهداشتی تا 95 درجه سانتی‌گراد جوشانیده شد. پس از سرد شدن و رسیدن به دمای 45 درجه سانتی‌گراد، مایه‌زنی شد. برای مایه‌زنی از ماستی که به روش سنتی و در سه تکرار در شیر مایه‌زنی شده بود، استفاده گردید. سپس شیر مایه‌زده شده، برای مرحله تخمیر در انکوباتور، به مدت 3 ساعت در دمای 45 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. به منظور تهیه نمونه‌های دوغ، از 50 درصد ماست به همراه 50 درصد آب استریل شده و 0/85 درصد نمک استفاده شد (Zareali et al., 2015).

آماده‌سازی گیاهان و عصاره‌گیری

اندام هوایی گیاهان مورد بررسی پس از خریداری با آسیاب (feller، چین) پودر شد. سپس عصاره‌های دارچین، ریحان و مریم‌گلی به روش خیساندن در مرکز رشد فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شاهرود تهیه شدند. 50 گرم پودر ماده گیاهی در اتانول 95 درصد به میزان 500 میلی‌لیتر و به مدت 48 ساعت در شرایط آزمایشگاه خیسانده شد. برای جلوگیری از تبخیر الکل، دهانه ارلن با پارافیلیم آزمایشگاهی بسته شد. سپس از کاغذ صافی معمولی عبور داده شد تا بخش جامد آن جدا شود. مایع بدست آمده در دستگاه سانتریفوژ (Hettich-EBA 8S، آلمان) به مدت 10 دقیقه با دور 2000rpm جداسازی و توسط کاغذ صافی واتمن شماره 1 فیلتر شد. ماده فیلتر شده برای خالص سازی نهایی و حذف حلال‌های موجود توسط دستگاه تبخیرکننده دوار (IKA - Rotary، آلمان) در دمای 55 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه در خلاء آبیگری شد. در ادامه، عصاره‌ها به مدت 12 ساعت در دمای 40 درجه سانتی‌گراد خشک شده و به صورت پودر درآمده و تا زمان مصرف در ظروف تیره در یخچال نگهداری شدند (Mehraban et al., 2017).

باکتری‌های مورد بررسی

باکتری‌های مورد آزمایش در این پژوهش، سویه‌های غذایی *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923، *اشرشیاکلاسی* ATCC 700728 و *ساکارومایسس سرویزیه* PTCC 5193 به صورت آمپول

اسیدآسکوربیک می‌باشد (Behradmanesh et al., 2013). این گیاه دارای خاصیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی بوده و یک آنتی‌بیوتیک به شمار می‌رود (Shirazi et al., 2008).

دارچین (*Cinnamomum zeylanicu*) بومی سریلانکا و از تیره برگ بو³ است. از مهم‌ترین ترکیبات آن می‌توان به سینمالدئید⁴ اشاره کرد که به‌عنوان طعم‌دهنده و عامل بوی دارچین در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از جمله ترکیبات دیگر دارچین می‌توان به ترکیبات فنلی مانند اوژنول⁵، ترکیبات ترپنی مانند لیمونن⁶، لینالول⁷، تانن و کومارین⁸ اشاره کرد. اثر ضدباکتریایی دارچین مربوط به سینامیک‌الدئید می‌باشد. همچنین دارچین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی نیز دارد (Tajkarimi et al., 2010). ریحان (*Ocimum basilicum* L.) از خانواده نعنائیان بوده و حاوی ترکیبات متعددی همچون مونوترپن‌ها، تری‌ترپن⁹، سزکویی‌ترپن¹⁰ و فلاونوئید می‌باشد. ریحان دارای فعالیت ضد میکروبی و ضدقارچی است و به‌عنوان یک ضد اکسیدان محسوب می‌شود (Valse et al., 2014). همکاران (2015) بیان کردند که افزودن عصاره گیاهان خوش‌اریزه و چای کوهی علاوه بر بهبود طعم نمونه‌ها بر ممانعت از رشد کپک و مخمر نمونه‌های دوغ نیز موثر می‌باشد. احمدی و همکاران (2018) در پژوهشی به بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس ال‌تورزین بنه بر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلاسی*، *کلوبورومایسس مارکسیانوس* و *پنیسیلیوم نوتاتوم* و اثر آن بر ماندگاری دوغ ایرانی پرداختند. نتایج این پژوهش نشان داد که طی مدت زمان نگهداری دوغ، جمعیت میکروبی مورد مطالعه در نمونه‌های تیمار شده با اسانس نسبت به شاهد کاهش یافت. به طوری که اسانس ال‌تورزین بنه می‌تواند برای افزایش ماندگاری دوغ مورد استفاده قرار گیرد. ابوالحسینی و همکاران (2019) نشان دادند که اسانس بنه تازه و رسیده در غلظت‌های بالاتر دارای بالاترین اثر بازدارندگی بر روی رشد *کلاپورومایسس مارکسیانوس* در دوغ ایرانی است. از آنجا که مطالعات صورت گرفته بر روی دارچین (Nourizadeh et al., 2003)، مریم‌گلی (Kermanshah et al., 2009) و ریحان (Sajjadi et al., 2006) خواص ضد میکروبی آنها را تأیید می‌نماید اما در زمینه تأثیر هم‌افزایی¹¹ خاصیت ضد میکروبی عصاره گیاهان فوق‌الذکر در محیط

- 1 Glycoside
- 2 Rosmarinic acid
- 3 Lauraceae
- 4 Cinnamaldehyde
- 5 Eugenol
- 6 Limonene
- 7 Linalool
- 8 Coumarin
- 9 Triterpenoid
- 10 Sesquiterpene
- 11 Synergistic effects

لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد.

تعیین خاصیت ضد میکروبی

جهت تعیین خاصیت ضد میکروبی، پس از انتقال سوش میکروبی مورد نظر به محیط کشت برین هارت اینفیوژن (BHI)¹ و 24 ساعت نگهداری آن در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، برای اثبات خلوص کلونی در محیط آگار خون‌دار² کشت داده شد. سوش مخمر نیز به محیط کشت سابرو دکستروز برات انتقال داده شد و سپس برای تعیین خلوص کلونی آن از محیط کشت سابرو دکستروز آگار استفاده شد (Abolhosseini et al., 2019).

تهیه سوسپانسیون میکروبی

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، میکروارگانیسم‌ها در شرایط استریل به محیط مولر هینتون برات (MHB)³ انتقال یافته و مجدد به مدت 24 ساعت در دمای 25 درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. میزان کدورت ناشی از رشد میکروارگانیسم‌ها از طریق جذب نوری با طول موج 625 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر Nova (England Biotech) و با استفاده از لوله استاندارد 0/5 مک فارلند ($1/5 \times 10^8$ CFU/ml) قرائت شد. در مرحله بعد رقیق‌سازی میکروب‌ها 1 به 100 انجام شد ($1/5 \times 10^6$ CFU/ml) (ISIRI, 2007).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)⁴ به روش

میکرودایلوشن

در این مرحله، از روش رقیق‌سازی بر اساس توصیه NCCLS⁵ (2000) استفاده شد. بدین ترتیب که رقت‌های $\frac{1}{2}$ ، $\frac{1}{4}$ ، $\frac{1}{8}$ ، $\frac{1}{16}$ ، $\frac{1}{32}$ ، $\frac{1}{64}$ ، $\frac{1}{128}$ ، $\frac{1}{256}$ و $\frac{1}{512}$ از عصاره‌ها تهیه شد تا غلظت‌های 25، 12/5، 6/25، 3/12، 1/60، 0/8، 0/4، 0/2، 0/1 و 0/05 میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره‌های هیدروالکلی سه گیاه مورد بررسی تهیه شد. برای تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از روش برات میکرودایلوشن در پلیت‌های میکروتیتر 96 چاهکی استریل (اکستراژن، آمریکا) استفاده شد. ابتدا در هر چاهک 50 میکرولیتر از محیط کشت برین هارت اینفیوژن آگار و 50 میکرولیتر از ترکیب سه عصاره با غلظت 0/093 میکرون (مریم گلی با غلظت 0/031 میکرون، ریحان

با غلظت 0/031 میکرون و دارچین با غلظت 0/031 میکرون) در انتها 50 میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی ($1/5 \times 10^6$ CFU/ml) ریخته شد (در مجموع 150 میکرولیتر در هر چاهک). نمونه کنترل مثبت چاهک شامل محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی و نمونه کنترل منفی محیط کشت و عصاره در نظر گرفته شد. پلیت‌های میکروتیتر به مدت 30 ثانیه با دور 250 rpm برای مخلوط شدن در شیکر قرار داده شدند. سپس محیط‌های کشت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت انکوبه شدند. بعد از طی زمان ذکر شده، به‌منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، چاهک‌ها از نظر وجود کدورت به طریق چشمی بررسی و حداقل غلظتی که مانع رشد میکروارگانیسم یا عدم کدورت مشهود با گروه کنترل بود، به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی به‌صورت میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌ها به‌صورت ترکیبی، سریال‌های مختلف به‌صورت $\frac{1}{2}$ و $\frac{1}{4}$ تهیه شد. سپس حداقل غلظت مهارکنندگی ترکیبی عصاره‌ها با روش چشمی مشاهده کدورت تعیین گردید.

تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)⁶

حداقل غلظت کشندگی بر اساس نتایج MIC تعیین شد. مقدار 50 میکرولیتر از چاهک‌هایی که رشد میکروارگانیسم‌ها در آن متوقف شده بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (MHA)⁷ استریل شده، کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت 24 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. آخرین رقتی از عصاره‌ها که قادر به مرگ 99/9 درصد از باکتری‌های زنده اولیه بودند به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ها در نظر گرفته شد (Baron & Finegold, 1990).

تعیین اثرات ضد میکروبی

9 سی‌سی از دوغ آماده شده داخل هر لوله آزمایش ریخته شد. سپس 1 سی‌سی از هر عصاره و 1 سی‌سی از سوسپانسیون ($1/5 \times 10^8$ CFU/ml) میکروب نیز به آن اضافه شد. یک لوله به‌عنوان کنترل مثبت (باکتری+ دوغ)، یک لوله کنترل منفی (عصاره+ دوغ) و یک لوله شاهد (دوغ تنها) در نظر گرفته شد. سپس لوله‌ها در دمای محیط قرار داده شد و در روزهای 7، 14، 21 و 30 از هر لوله به میزان 20 میکرولیتر از باکتری‌ها به روی محیط کشت مولر هینتون آگار و به همین مقدار از مخمر بر روی محیط آگار خون‌دار کشت داده شد. پس از نگهداری در انکوباتور به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، تعداد کلونی‌ها شمارش شد.

6 Minimum Bactericidal Concentration
7 Mueller Hinton Agar

1 Brain Heart Infusion
2 Blood agar
3 Mueller Hinton Broth
4 Minimum Inhibitory Concentration
5 The National Committee for Clinical Laboratory Standards

تعیین برهمکنش فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها

برهمکنش فعالیت ضد میکروبی ترکیب عصاره‌های ریحان، دارچین و مریم‌گلی براساس شاخص غلظت بازدارنده افتراقی (FIC) مورد ارزیابی قرار گرفت. واکنش متقابل ترکیب عصاره این سه گیاه با استفاده از رابطه ذیل محاسبه گردید.

$$(1) \dots\dots\dots (MIC \text{ ماده مورد نظر به تنهایی}) \div (MIC \text{ ماده مورد}$$

نظر در حالت ترکیب) $FIC = \text{ماده ضد میکروبی مورد نظر}$

$$FIC C = (MIC (A+B+C) / MIC A) + (MIC (B +A +C) / MIC B) + (MIC (C+B+A) / MIC C) + FIC B + FIC A = FIC$$

(2)

A: عصاره ریحان، B: عصاره دارچین، C: عصاره مریم‌گلی

بررسی تغییرات اسیدیته و pH

pH نمونه‌های مورد نظر توسط دستگاه pH متر (HANNA، ایتالیا، 211) و اسیدیته برحسب اسیدلاکتیک محاسبه گردید (ISIRI، 1999).

آزمون حسی

در آزمون حسی، از 84 نفر ارزیاب در محدوده سنی 17 تا 65 سال استفاده شد. ابتدا پودر عصاره‌های گیاهی با اتوکلاو استریل گردید. سپس به مقدار 1 سی‌سی از ترکیب سه عصاره مورد نظر در 1000 سی‌سی دوغ به خوبی حل شده و برای تست در اختیار مصرف کنندگان قرار داده شد. از بین موارد مختلف حسی، برخی ویژگی‌های

حسی دوغ حاوی ترکیب عصاره‌های ریحان، دارچین و مریم‌گلی مانند مزه، بو، رنگ و پذیرش کلی مدنظر قرار گرفت (ISIRI، 1999).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نتایج حاصل از این پژوهش، به روش اندازه‌گیری مکرر در سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver18 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همچنین آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای مقایسه روند تغییرات بین تیمارها در طول زمان در سطح احتمال 5 درصد استفاده شد. رسم نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل انجام شد. ارزیابی حسی نیز از طریق تکمیل پرسشنامه، براساس آزمون هدونیک 5 نقطه‌ای و در 5 حالت تعیین شد. بیشترین امتیاز (5) گزینه خیلی‌زیاد دوست داشتم و کمترین امتیاز (1) برای گزینه خیلی زیاد دوست نداشتم، در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

نتایج حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌های مریم‌گلی، دارچین و ریحان و شاخص غلظت بازدارنده افتراقی (FIC) ترکیب عصاره‌ها بر علیه میکروارگانیسم‌های مورد بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره سه گیاه ریحان، دارچین، مریم‌گلی و ترکیب هر سه عصاره با تعیین مقادیر MIC و MBC مورد بررسی قرار گرفت (جدول 1).

جدول 1- حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌های مریم‌گلی، دارچین، ریحان و ترکیب آنها بر علیه میکروارگانیسم‌های مورد بررسی (میلی گرم بر میلی لیتر)

میکروارگانیسم بیماری‌زا	مریم‌گلی	دارچین	ریحان	ترکیب هر سه عصاره
	MIC	MBC	MIC	MBC
استافیلوکوکوس اورئوس	1/60	3/12	12/5	0/8
ساکارومایسس سرویزیه	6/25	12/5	12/5	0/8
اشرشیاکالی	12/5	12/5	12/5	6/25

اورئوس و ساکارومایسس سرویزیه به ترتیب 0/4 و 0/8 میلی گرم بر میلی لیتر بود. MBC عصاره دارچین و ریحان بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس با میزان MIC برابر بود. MBC عصاره مریم‌گلی، دارچین و ریحان بر علیه اشرشیاکالی با میزان MIC برابر بود. براساس جدول 1، با توجه به حداقل بودن MIC، حساسیت استافیلوکوکوس اورئوس در برابر عصاره‌های به کار برده شده به تنهایی بیشتر بود و با غلظت کمتری از عصاره مورد استفاده، رشد آن مهار شد (et al., 2018) (Ahmadi) درحالی که با توجه به حداکثر بودن MIC، حساسیت

نتایج به دست آمده نشان داد حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره ریحان 6/25 و 12/5 میلی گرم بر میلی لیتر، عصاره دارچین 12/5 میلی گرم بر میلی لیتر و عصاره مریم‌گلی بین 1/60 و 12/5 میلی گرم در هر میلی لیتر بود. همچنین حداقل غلظت کشندگی عصاره ریحان 12/5 میلی گرم بر میلی لیتر، عصاره دارچین 12/5 الی 25/1 میلی گرم بر میلی لیتر و عصاره مریم‌گلی 3/12 الی 12/5 میلی گرم بر میلی لیتر بود. حداقل غلظت مانع‌کنندگی و حداقل غلظت کشندگی ترکیب سه عصاره ریحان، دارچین و مریم‌گلی بر علیه استافیلوکوکوس

امکان پذیر است چنانچه $(FIC \leq 0.5)$ حالت هم افزایی، $(0.5 < FIC \leq 0.75)$ حالت افزایشی، $(0.75 < FIC < 2)$ عدم تأثیر و اگر $(FIC \geq 2)$ حالت کاهش اثر یا آنتاگونیسم دارند (Goni et al., 2009). نتایج این پژوهش نشان داد ترکیب عصاره ریحان و دارچین و ترکیب هر سه عصاره ریحان، دارچین و مریم گلی بر علیه هر سه باکتری اثر هم افزایی داشت. در ترکیب عصاره مریم گلی با ریحان و همچنین ترکیب مریم گلی با دارچین در برابر همه میکروارگانیسم بیماریزای مورد بررسی اثر هم افزایی مشاهده نشد (بی اثر). همچنین ترکیب سه عصاره ریحان، دارچین و مریم گلی در مقابل *اشرشیاکلا* اثر هم افزایی ضعیف تری نسبت به عصاره های دیگر نشان داد. در تمام حالات ترکیب عصاره ها اثرات رقابت کنندگی مشاهده نشد.

اشرشیاکلا در برابر عصاره های به کار برده شده به تنهایی کمتر بود. کاربرد توام هر سه عصاره با یکدیگر بطور چشم گیری MIC و MBC را کاهش داد که نشان دهنده موثرتر بودن خاصیت ضد میکروبی آنها بر علیه میکروارگانیسم های مورد بررسی در مقایسه با هر یک از عصاره ها به تنهایی بود.

بررسی برهمکنش های ضد میکروبی به شکل یکی از چهار حالت احتمالی هم افزایی، افزایشی، عدم تأثیر و یا کاهش اثر می باشد. با توجه به اینکه در طب سنتی ایران گیاهان دارویی به صورت مخلوط نیز مورد استفاده قرار می گیرند، یافته های مربوط به واکنش متقابل ترکیب عصاره های ریحان، دارچین و مریم گلی در فعالیت ضد میکروبی بر اساس شاخص غلظت بازدارنده افتراقی (FIC) در جدول 2 آورده شده است. تفسیر شاخص غلظت بازدارنده افتراقی (FIC) به 4 حالت

جدول 2- شاخص غلظت بازدارنده افتراقی (FIC) عصاره های ریحان، دارچین و مریم گلی بر علیه میکروارگانیسم های مورد بررسی

میکروارگانیسم بیماریزا	ریحان، دارچین، مریم گلی
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	0/03
<i>اشرشیاکلا</i>	0/74
<i>ساکارومایسس سرویزیه</i>	0/16

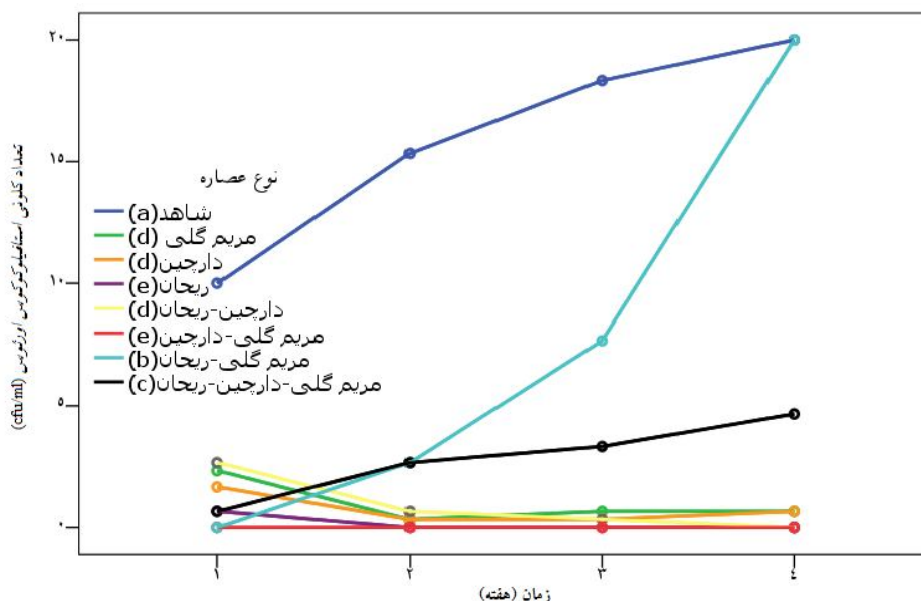
جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* افزایش یافت ($p < 0.05$) به طوری که تعداد کلونی *استافیلوکوکوس اورئوس* شاهد نسبت به نمونه های حاوی عصاره افزایش یافت (شکل 1).

نتایج آزمون های میکروبی

ارزیابی جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در طول دوره

نگهداری

نتایج شمارش جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* طی نگهداری نشان داد که با گذشت زمان تأثیر عصاره های ذکر شده بر کاهش



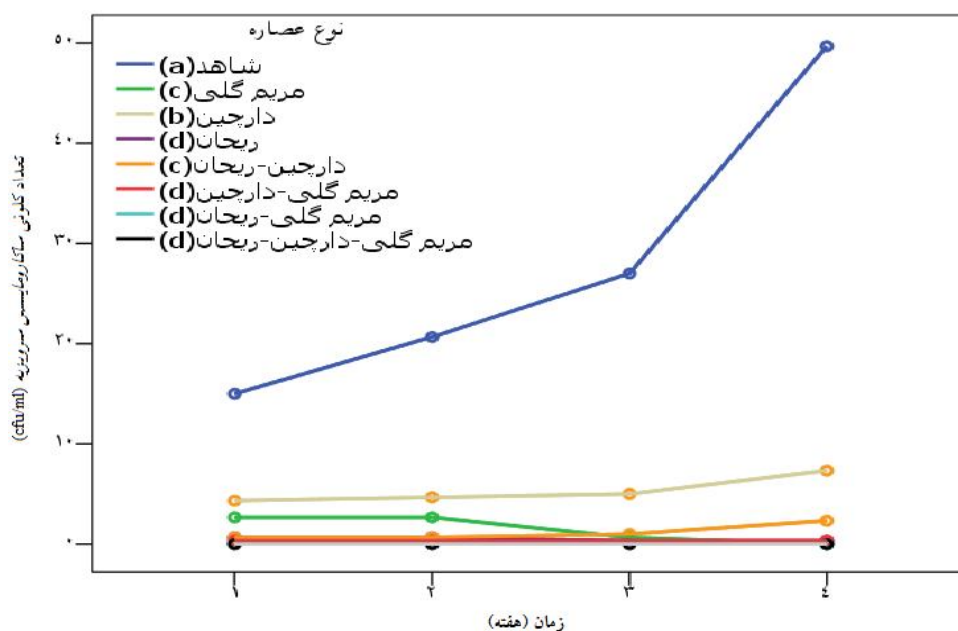
شکل 1- اثر عصاره های مختلف بر تغییرات جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* در دوغ طی 4 هفته

حروف متفاوت در کنار نام تیمارها نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) در طول نگهداری می باشد

ولی در صورت انتخاب صحیح اجزاء نگهدارنده طبیعی (عصاره و یا اسانس) و ترکیب آنها با غلظت مناسب، می‌توان سیستم محافظتی خوبی در برابر میکروارگانیسم‌ها و نگهداری طولانی‌تر مواد غذایی داشت (Azizkhani et al., 2012). افزایش تاثیر مواد ضد میکروبی به هنگام استفاده همزمان از دو یا چند ترکیب، ناشی از افزایش تعداد منافذ تشکیل شده در غشای سلولی عوامل بیماری‌زا و به دنبال آن نشت ترکیبات داخل سلولی به خارج از سلول و همچنین مهار پروتئین‌های آنزیمی مسئول حفظ ویژگی‌های عملکردی غشای سلولی می‌باشد.

ارزیابی جمعیت ساکارومایسس سرویزیه در طول دوره نگهداری

نتایج شمارش جمعیت ساکارومایسس سرویزیه طی نگهداری حاکی از تاثیر معنی‌دار همه عصاره‌ها به صورت تکی و همچنین به صورت ترکیبی در مقایسه با شاهد بر علیه ساکارومایسس سرویزیه بود ($p < 0/05$) (شکل 2).



شکل 2- اثر عصاره‌های مختلف بر تغییرات جمعیت ساکارومایسس سرویزیه در دوغ طی 4 هفته
حروف متفاوت در کنار نام تیمارها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) در طول نگهداری می‌باشند

مریم‌گلی مشاهده شد ($p < 0/05$). اگرچه مطالعات صورت گرفته در زمینه اثر هم‌پوشانی و یا هم‌افزایی عصاره گیاهان دارویی در محیط‌های واقعی غذایی گسترده نمی‌باشد ولی نتایج آنها نشان داده است افزودن ترکیبات مؤثره گیاهان مختلف دارویی به یکدیگر می‌تواند در افزایش قدرت ضد باکتریایی آنها تأثیرگذار باشد

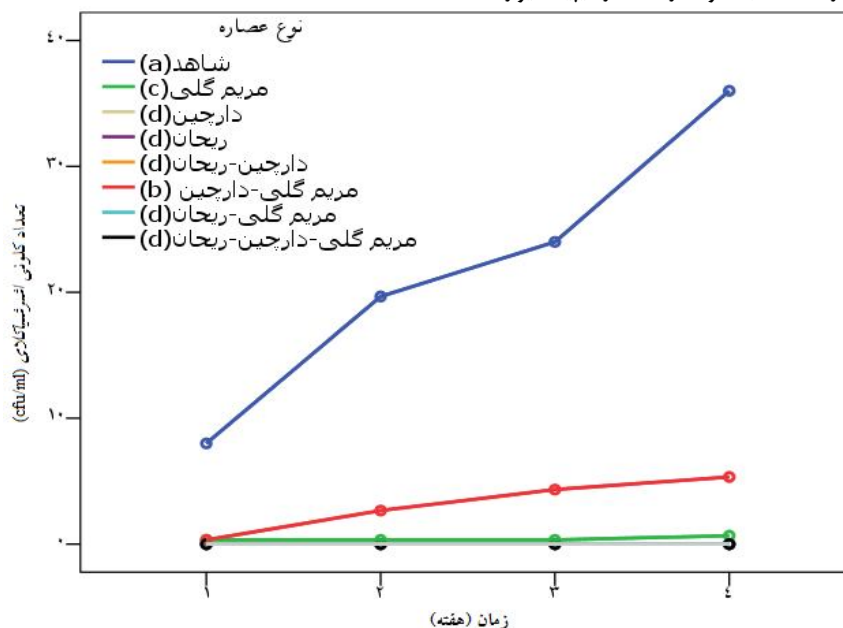
همچنین نمونه دوغ حاوی عصاره مریم‌گلی و ریحان نیز نشان از عدم وجود خواص پایدار ضد میکروبی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس دارد که نمی‌تواند علت این تفاوت فاحش باشد. سایر نمونه‌ها در طول زمان رشد میکروبی چندانی نشان ندادند که این نشان‌دهنده خواص پایدار ضد میکروبی عصاره‌ها در دوغ می‌باشد. ترکیب این سه عصاره اثر سینرژیستی بیشتری بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس و مخمر ساکارومایسس سرویزیه داشت ($p < 0/05$). بیشترین اثر سینرژیستی بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس در ترکیب عصاره ریحان، دارچین و مریم‌گلی مشاهده شد ($p < 0/05$). طباطبایی یزدی و همکاران (2016) اثر عصاره آویشن، نعناع و کاکوتی بر استافیلوکوکوس اورئوس و ژئوتریکوم کاندیدوم را به صورت تکی و ترکیبی در دوغ صنعتی بررسی کردند. آنها گزارش کردند استفاده همزمان دو عصاره آویشن و کاکوتی با غلظت مناسب مؤثرتر از کاربرد هر یک از عصاره‌ها به تنهایی بر کاهش جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس بود. تحقیقات نشان داده است، اغلب یک ماده گیاهی به تنهایی نمی‌تواند یک فرآورده را به اندازه کافی محافظت نماید

هرچند که در بین عصاره‌ها نیز عصاره دارچین اثر ضعیف‌تری نسبت به سایر عصاره‌ها از خود نشان داد ($p < 0/05$). همچنین در بین کلیه تیمارهای به کار رفته در این پژوهش، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداکثر خاصیت هم‌افزایی بر علیه مخمر ساکارومایسس سرویزیه در طی دوره نگهداری، در ترکیب هر سه عصاره ریحان - دارچین -

سلولی باکتری‌ها موجب دناتوراسیون پروتئین‌ها و از هم پاشیدن ساختار سلولی و تراوش سیتوپلاسم و در نهایت مرگ سلول میکروارگانیسم شوند (Oussalah et al., 2006). در گیاهان مقادیر قابل توجهی متابولیت‌های ثانویه شامل ترکیبات فلی و فلاوونوئیدها، گلیکوزیدها، آلکالوئیدها، پلی‌استیلن‌ها، ترپن‌ها در بافت‌های مختلف آنها ذخیره می‌باشد که برای بروز خاصیت ضدباکتریایی آنها بسیار مهم است (Swamy et al., 2016; Marino et al., 2001).

ارزیابی جمعیت/اثرشیاکلای در طول دوره نگهداری

مطابق استاندارد ملی ایران به شماره 2453 میزان کلی‌فرم در هر میلی‌لیتر دوغ باید صفر باشد (ISIRI, 2007). نتایج شمارش جمعیت/اثرشیاکلای طی نگهداری حاکی از تاثیر مناسب اغلب عصاره‌ها در جلوگیری از رشد/اثرشیاکلای در محیط دوغ در مقایسه با نمونه شاهد بود ($p < 0/05$) (شکل 3).



شکل 3- اثر عصاره‌های مختلف بر تغییرات جمعیت/اثرشیاکلای در دوغ طی 4 هفته

حروف متفاوت در کنار نام تیمارها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) در طول نگهداری می‌باشند

محدود می‌کند. در باکتری‌های گرم مثبت تماس مستقیم ترکیبات هیدروفوب اسانس‌ها با این فسفولیپید دو لایه‌ای صورت می‌گیرد. این محل جایی است که این ترکیبات اثر خود را بر جای می‌گذارند. این اثر یا به‌صورت افزایش نفوذپذیری یون‌ها و یا نشت ترکیبات حیاتی سلولی رخ می‌دهد و یا این که به‌صورت ناتوانی سیستم آنزیمی باکتریایی بروز می‌کند (Sandri et al., 2007). بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، ترکیب سه عصاره ریحان، دارچین و مریم‌گلی

(Hassanzadeh, 2012). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج کریمی (1386) هم‌خوانی داشت. آنها اثرات ضد میکروبی اسانس نعنای، پونه و گلاب را بر روی دباریومایسس هانسنی در دوغ ایرانی، طی 28 روز در دمای 25 درجه سانتی‌گراد مورد مطالعه قرار دادند. نتایج حاکی از تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس نعنای و پونه در کاهش جمعیت مخمر بود. اگرچه بروز فعالیت ضدباکتریایی اغلب بسیار واضح است ولی مکانیسم عمل آن به‌طور کامل درک نشده است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهند عصاره و اسانس گیاهان اثرات ضد باکتریایی خود را از طریق تغییر ساختار و عمل غشاء سلولی اعمال می‌کنند. بررسی‌های صورت گرفته در خصوص مکانیسم عمل عصاره و اسانس‌ها اثبات نموده است که این ترکیبات گیاهی از طریق روش‌هایی چون تجزیه دیواره سلولی، افزایش اسیدیته سیتوزولی، آسیب به غشای سلولی، آسیب به غشای پروتئین‌ها، نشت محتویات سلول به خارج و اختلال در نقل و انتقالات می‌باشد (Lino, 2010). بعضی از این ترکیبات قادر هستند با نفوذ در ساختار لیپید دیواره

از میان میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای مورد بررسی، باکتری گرم منفی/اثرشیاکلای مقاوم‌تر از سایر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بود. نتایج تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد مقاومت باکتری‌های گرم منفی در برابر خاصیت ضد میکروبی عصار و اسانس‌های گیاهی بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت است که می‌تواند به دلیل وجود غشاء‌های خارجی احاطه‌کننده دیواره سلولی در آنها باشد. غشاء خارجی انتشار مواد هیدروفوب از میان لایه پوشاننده لیپوپلی‌ساکارییدی را

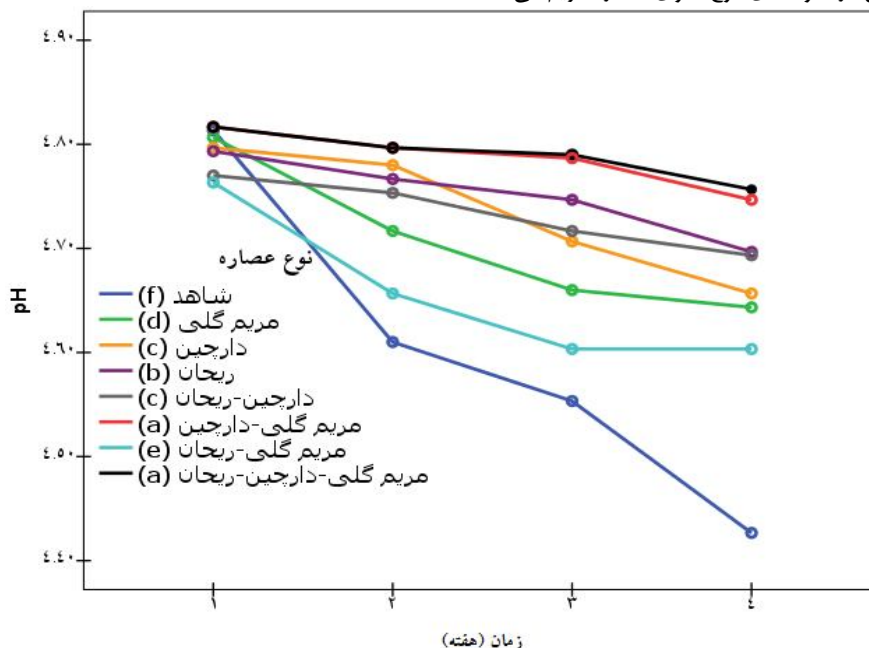
و ترکیب عصاره‌های مریم‌گلی و ریحان بیشترین تغییرات کاهشی pH در مقایسه با سایر تیمارهای حاوی عصاره مشاهده شد ($p < 0/05$). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تولید اسید توسط باکتری‌های لاکتوباسیلوس در نمونه‌های حاوی ترکیب عصاره در طول دوره نگهداری در محیط بیشتر از نمونه شاهد بوده است. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج مرتضویان و همکاران (2007) و وثوق و همکاران (2009) مطابقت داشت. علت کاهش pH احتمالاً شکسته شدن برخی از گروه‌های استری و تبدیل آنها به گروه اسیدی است. از سوی دیگر رشد باکتری‌های مقاوم به اسید همچون لاکتوباسیلوس‌ها نیز ممکن است در این زمینه موثر باشند. مرتضویان و همکاران (2007) نیز علت کاهش pH را باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس که عامل اسیدسازی یا بیش‌اسیدسازی در ماست است معرفی کردند. این باکتری در محصول دوغ نیز به همان صورت عمل می‌کند به طوری که برخلاف استرپتوکوکوس ترموفیلوس که در pH کمتر از 4/5 فعالیتش متوقف می‌شود حتی تا pH پایین‌تر از این مقدار (3/5-3) می‌تواند تولید اسید را ادامه دهد. در دوغ نیز این باکتری حتی قادر به کاهش pH به کمتر از 3/8 است. به‌طور کلی می‌توان گفت که در زمان تخمیر و نگهداری، روند کاهش اسیدیته در محصول حتی تا $pH < 3/5$ ادامه خواهد یافت و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس قادر به بیش‌اسیدسازی در محصول دوغ نیز همچون ماست است (Dini et al., 2013).

و پس از آن ترکیب عصاره‌های مریم‌گلی و ریحان و همچنین ریحان و دارچین بیشترین خاصیت ضد میکروبی را در کاهش جمعیت اشرشیاکلاهی در طی دوره نگهداری از خود نشان دادند ($p < 0/05$). اما ترکیب عصاره‌های مریم‌گلی و دارچین اثر ضعیف‌تری در جلوگیری از رشد اشرشیاکلاهی نسبت به سایر عصاره‌ها از خود نشان داد ($p < 0/05$). نتایج این پژوهش با مطالعه Oroojalian و همکاران (2010) هم‌خوانی داشت. آنها گزارش کردند استفاده ترکیبی عصاره ریحان، دارچین و مریم‌گلی علیه اغلب میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا خاصیت ضدباکتریایی بیشتری نسبت به کاربرد انفرادی هر عصاره به تنهایی دارد.

نتایج آزمون‌های شیمیایی

روند تغییرات pH در طول دوره نگهداری

در فرآورده‌های غذایی تخمیری از جمله لبنیات، اسیدیته بالا و pH پایین، مهم‌ترین عوامل کاهش قابلیت زیستی باکتری‌های مفید می‌باشند (Dinakar & Mistry, 1994). با توجه به شکل 4، pH نمونه‌های دوغ با گذشت زمان در طول دوره نگهداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0/05$) این در حالی است که افزودن عصاره از کاهش pH در طول زمان به‌طور معنی‌داری جلوگیری کرد ($p < 0/05$) به‌طوری که نمونه شاهد بیشترین و نمونه حاوی ترکیب هر سه عصاره کمترین تغییرات pH را در طول زمان از خود نشان دادند ($p < 0/05$). همچنین در نمونه‌های دوغ حاوی عصاره مریم‌گلی



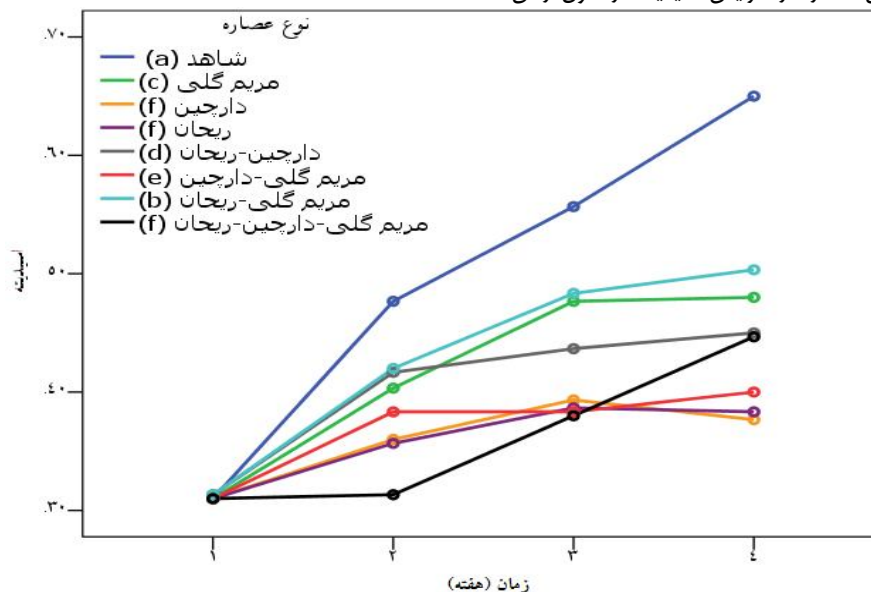
شکل 4- اثر عصاره‌های مختلف بر تغییرات pH دوغ طی 4 هفته

حروف متفاوت در کنار نام تیمارها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) در طول نگهداری می‌باشند

به طور معنی داری جلوگیری کرد ($p < 0/05$) به طوری که نمونه شاهد بیشترین و نمونه حاوی عصاره دارچین، ریحان و همچنین نمونه حاوی ترکیب سه عصاره کمترین تغییرات اسیدیته را در طول زمان از خود نشان دادند ($p < 0/05$).

رشد تغییرات اسیدیته در طول دوره نگهداری

با توجه به شکل 5، اسیدیته نمونه های دوغ با گذشت زمان در طول دوره نگهداری به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0/05$) این در حالی است که افزودن عصاره از افزایش اسیدیته در طول زمان



شکل 5- اثر عصاره های مختلف بر تغییرات اسیدیته دوغ طی 4 هفته

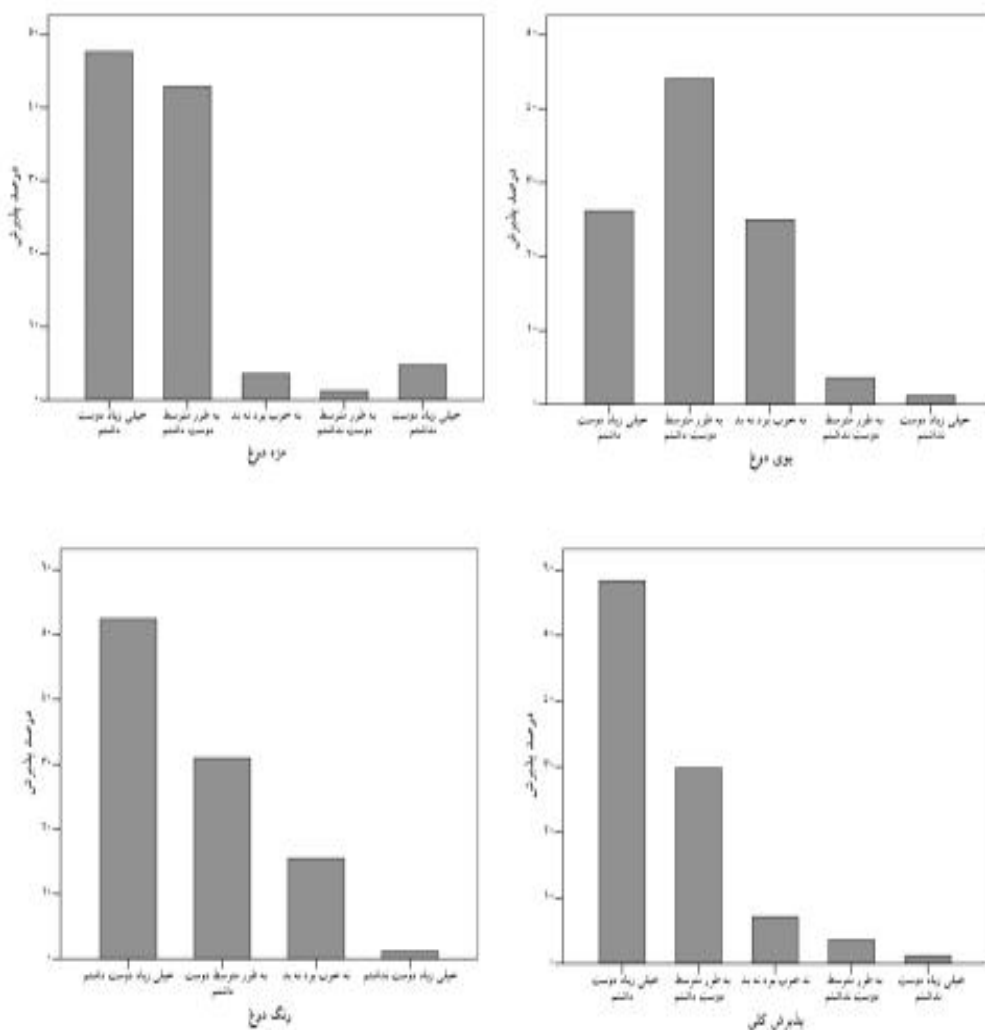
حروف متفاوت در کنار نام تیمارها نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) در طول نگهداری می باشد

پذیرش مصرف کننده را در پی خواهد داشت. مهم ترین عوامل موثر در طعم محصولات لبنی مقادیر استالذئید و دی استیل هستند که در اثر تخمیر محصولات لبنی ایجاد می شوند (Roberfrod, 1996). شکل 6 نتایج مقایسه میانگین آزمون ارزیابی حسی نمونه دوغ حاوی ترکیب عصاره های ریحان، دارچین و مریم گلی را نشان می دهد. با توجه به این که ارزیابی ویژگی های حسی نمونه حاوی ترکیب سه عصاره فوق الذکر صرفا به منظور مطالعه پذیرش آن انجام شده است بنابراین بررسی درصد پراکندگی نشان داد که 47/6 درصد افراد مزه دوغ را خیلی زیاد دوست داشتند. در حالی که 26/2، 52/4 و 58/3 درصد افراد مورد بررسی به ترتیب بو، رنگ و پذیرش کلی نمونه حاوی ترکیب سه عصاره را خیلی زیاد دوست داشتند. میانگین نظرهای جمع آوری شده نشان داد که نمونه دوغ حاوی ترکیب سه عصاره فوق الذکر از نظر مزه، بو، رنگ و پذیرش کلی دوغ قابل قبول تشخیص داد شد به طوری که حدود 90 درصد شرکت کنندگان حاضر به مصرف آن بودند. لازم به ذکر است که نوع تیمار و غلظت استفاده شده در فرمولاسیون نمونه دوغ نقش مهمی بر پذیرش نمونه ها از نظر عطر و طعم و سایر ویژگی های حسی توسط مصرف کننده دارد.

همچنین در نمونه های دوغ حاوی عصاره مریم گلی و ترکیب عصاره های مریم گلی و ریحان بیشترین اسیدیته در مقایسه با سایر تیمارهای حاوی عصاره مشاهده شد ($p < 0/05$). به طوری که در نمونه های حاوی ترکیب عصاره های دارچین و ریحان و همچنین مریم گلی و ریحان افزایش اسیدیته در هفته دوم بیشتر مشهود بود که با نتایج Sendra و همکاران (2008) و Zareali و همکاران (2015) مطابقت داشت. Sendra و همکاران (2008) گزارش کردند که افزودن عصاره های گیاهی سبب تحریک بیشتر رشد لاکتوباسیلوس بولگاریکوس می شود و در نتیجه فعالیت پروتئولیتیکی این باکتری و رهاسازی اسیدهای آمینه آزاد، اسیدیته قابل تیتراسیون افزایش می یابد.

ارزیابی ویژگی های حسی

خواص حسی از عوامل اساسی پذیرش بسیاری از فرآورده ها و کسب رضایت از مصرف آنها است. با توجه به اهمیت این خواص بررسی و شناخت عوامل موثر بر آنها به منظور دستیابی به خواص بهینه و جلوگیری از ایجاد خواص حسی نامطلوب ضروری است. طعم یکی از مهم ترین جنبه های کیفی غذاها و نوشیدنی ها است که



شکل 6- ارزیابی حسی دوغ حاوی ترکیب عصاره‌های ریحان، دارچین و مریم‌گلی

خواص حسی دوغ را در طی نگهداری حفظ کرده و جمعیت میکروبی آن را کاهش و زمان ماندگاری آن را بهبود بخشید. کاربرد همزمان این عصاره‌ها دارای اثر بازدارندگی قابل توجهی به‌ویژه علیه باکتری‌های گرم مثبت بود و می‌توان در راستای بهینه‌سازی استفاده از عصاره‌ها در کنترل مؤثر بیماری‌زاهای مواد غذایی به‌عنوان یک روش مکمل که در عین حال اثر نامطلوب کمتری بر خواص ارگانولپتیکی مواد غذایی داشته باشند، در دوغ استفاده شود. برای دست یافتن به نتایج بهتر لازم است اثر عصاره آبی و نیز اسانس این گیاهان در غلظت‌های متفاوت با نتایج پژوهش حاضر مقایسه شود. همچنین پیشنهاد می‌شود برای آزمون حسی از غلظت‌های متفاوت عصاره نیز برای مقایسه استفاده گردد.

نتیجه‌گیری

نظر به اهمیت تغذیه‌ای و اثرات سلامتی‌بخش و همچنین خواص ضد میکروبی گیاه ریحان، دارچین و مریم‌گلی و همچنین تمایل مصرف‌کنندگان به فرآورده‌های طبیعی و اجتناب از نگهدارنده‌های مصنوعی، ضرورت مطالعه و گسترش در این حوزه امری بدیهی می‌نماید. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، ترکیب عصاره‌های هیدروالکلی سه گیاه ریحان، دارچین و مریم‌گلی بر روی سوبیه‌های غذایی *اشرشیا کلائی*، *استافیلوکوکوس اورتوس* و مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* در محیط دوغ خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی از خود نشان داد. همچنین با استفاده از غلظت مناسب عصاره‌های هر سه گیاه و ایجاد خاصیت هم‌افزایی ناشی از ترکیب آنها هم می‌توان

- Ahmadi, S.M., Moslehishad, M., Rahimi, A. 2018. Evaluation of antimicrobial activity of oleoresin essential oil of *Pistacia atlantica* on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Kluyveromyces matxianus*, *Penicillium natatum* and its impact on Iranian doogh shelf life. *JFST*. 85(15):113-124 [In Persian].
- Azizkhani, M., Misaghi, A., Akhondzadeh Basti, A., Gandomi Nasrabadi, H., Hosseini, H. 2012. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential Oil on Growth and Enterotoxin E Production of *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *J Med plants*. 11(44): 185-192 [In Persian].
- Abolhosseini, Sh., Golestan, L., Kaboosi, H. 2019. The effect of fresh and ripe *Pistacia atlantica* on Shelf life and sensory properties of Iranian doogh. *JFST*. 85(15):417-424 [In Persian].
- Baron, E.J., and Finegold, S.M. 1990. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 8th Ed., CV Mosby Co., St. Louis, USA .pp: 286-402, 435-438.
- Behradmanesh, S., Derees, F., Rafieian-kopaei, M. 2013. Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients. *J Renal Inj Prev*. 2(2): 51-54.
- Celiktas, O.Y., Kocabas, E.H., Bedir, E., Sukan, F.V., Ozek, T., and Baser, K.H.C. 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem*. 14:323-8.
- Dinakar, P., and Mistry, V. 1994. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in cheddar cheese. *J. Dairy Sci*. 77: 2854-2864.
- Dini, A., Razavi, S.H., and Ebrahimzadeh Mousavi, S.A. 2013. Effect of incubation and storage temperatures and final pH on the viability of probiotic bacteria and sensory characteristics in probiotic Doogh. *J. Food Sci*. 23(3):367-380 [In Persian].
- Farajvand, N., Alimohammadi, M. 1393. Prevalence of *Staphylococcus aureus* in Four Famous Brand of Doogh Produced in Iran. *Iran. J. Health & Environ*. 7 (1):85-94.
- Goni, P., Lopez, P., Sanchez, C., Go.mez-Lus, R., Becerril, R., and Nerin, C. 2009. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chem*. 116:982-989.
- Heinrich, M., Barne, J., Gibbons, S., Williamson, M. 2012. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy. Elsevier Ltd, p. 232.
- Hassanzadeh, A. 2012. Cinnamon and its properties. *Monthly Training and New Technology Research of Food*. Haghjoo R., and Tadjalli M. 2016. Effect of Persian Sage (*Salvia rhytidia*) Extract on Histomorphometric Changes of Cerebral Cortex and Hippocampus Following Ischemia-Reperfusion Injuries in Rat. *Zahedan J Res Med Sci*. 18(2):59-93.
- ISIRI. 2007. Doogh – Specifications and test method. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, 2453, 1th ed. Tehran.
- ISIRI. 2007. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Milk and milk products–Enumeration of colony forming units of yeasts and/or moulds-colony-Count technique at 25°C, No. 10154. 1st. Ed Tehran.
- ISIRI. 1999. Basic principles of sensory evaluation of milk and its products. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, No. 4691.
- Kermanshah, H., HashemiKamangar, S., Arami, S., Mirsalehian, A., Kamalinejad, M., Karimi, M., JabalAmoli, F. 2009. In vitro evaluation of antibacterial activity of hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* and *Pimpinellaanisum* against cariogenic bacteria. *JIDA*. 22:149-54.
- Karimi, A. 1386. Study the antimicrobial effect of essential oils of mint, oregano, rose water and effect of the temperature on the growth of *Debaryomyces hansenii* in Doogh. Ph.D. thesis in food hygiene. IAU. Oloum tahghighat branch.
- Lino, C.M., and Pen, A. 2010. Occurrence of caffeine, saccharin, benzoic acid and sorbic acid in soft drinks and nectars in Portugal and subsequent exposure assessment. *Food Chem*. 121(2):503-508.
- Mortazavian, A. M., Ehsani, M. R., Sohrabvandi, S., and Reihemer, J. A. 2007. MRS-Bile agar: Its suitability for the enumeration of mixed probiotic in cultured dairy products. *Milchwissenschaft*. 62:270–272.
- Marino, M., Bersani, C., and Comi, G. 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *Int. J. Food Microbial*. 67(3):187-195.
- Mehraban, A., Edalatian Dovom, M. R., Haddad Khodaparast, M.H., Mehraban Sang Atash, M. 2017. Study of antibacterial effect of aqueous, ethanolic and droalcoholic extracts of aerial oranges of *Salvia chorassanica* against some spoilage and poisoning bacteria. *JFST*. 66(14):215-225 [In Persian].
- NCCLS. 2000. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard, M7-A5.

- Nourizadeh, E., Ghasemi, K., Latifi, S. 2003. Anti-bacterial effects of Licorice on *Helicobacter Pylori*. The 3th National Congress of Biotechnology. 9-11. Mashad, Iran.
- Oussalah, M., Caillet, S., and Lacroix, M. 2006. Mechanism of action of *Spanish oregano*, *Chinese cinnamon*, and *savory* oils against cell membrane and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.* 69(5):1046-1055.
- Oroojalian, F., Kasra kermanshahi, R., Azizi, M., Basaami, M.R. 2010. Synergistic antibacterial activity of the essential oils from three medicinal plants against some important food-borne pathogens by microdilution method. *IJMAP*. 26 (2):133-146 [In Persian].
- Shirazi, M.H., Ranjbar, R., Eshraghi, S., Amin, G., Seyed Nouri, M., and Bazzaz, N. 2008. Inhibitory Effects of Sage Extract on the Growth of Enteric Bacteria. *PJBS*. 11:487-489.
- Sandri, I.G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A.P.L., Echeverrigaray, S. 2007. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Food Chem.* 103:823-828.
- Sendra, E., Fayos, F., Lario, Y., Ferna'ndez-Lo'pez, J., Sayas-Barbera', E. and Pe'rez Alvarez, J.A. 2008. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. *Food microbiol.* 25:13-21.
- Sajjadi, SE. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L) from Iran. 2006. *Daru J. Pharm. Sci.* 14(3):128 - 130.
- Swamy, M.K., Akhtar, M.S. and Sinniah, U.R. 2016. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. *Evid-Based. Compl. Alt.* p: 1-20.
- Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. and Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds.
- Tamime, A. and Robinson, R. 1999. *Yogurt Science and Technology*. Woodhead Publ. Cambridge, England, and CRC Press, Boca Raton, FL.
- Tabatabaie yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., and Mortazavi, S. A. 2016. Investigation Effects of Lamiaceae plants (*Thymus vulgaris* L., *Mentha spp.* and *Ziziphora tenuir* L.) Inhibitory *Staphylococcus aureus* and *Geotrichum candidum* in Razavi Khorasan Province Industrial Doogh Samples with Response Surface Method (RSM). *IJSTS*. 51(13):15-28 [In Persian].
- Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Caillag, I., Sevastre, B. 2014. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities and phenolic profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedry* S. *Molecules*. 19:5940-5507.
- Voosogh, A.S., Khomeiri, M., Kashani Nijad, M., Jafari, S.M., 2009. Effects of mint extract on the viability of probiotic bacteria in a native Iranian dairy drink (Doogh). *ANRES*. 16(1):156-164. [In Persian].
- Roberfroid, MB. 1996. Functional effects of food components and the gastrointestinal system: chicory fructooligosaccharides. *Nutr Rev.* 54(11):38-42.
- Zareali, M., Hojjati, M., Tahmozi didehban, S., Jouyandeh, H. 2015. Effect of echinophora (*Echinophora cinerea* Boiss) and *Stachys* (*Stachys lavandulifolia* Vahl) extracts on qualitative and sensory characteristics of Doogh. *IJBSE*. 46(3):327-337 [In Persian].

Interaction of antimicrobial properties of hydro-alcoholic extracts of Basil (*Ocimum basilicum*), Salvia (*Salvia officinalis*) and Cinnamon in Iranian yoghurt drink (doogh)

H. Shahsavari¹, M. Bolandi^{2*}, H. Baghaei³

Received: 2019.04.19

Accepted: 2019.06.02

Introduction: Plant extracts have antimicrobial properties and can be substituted as chemical flavorings in food. Preservatives are compounds that are used to inhibit the growth or to eliminate harmful microorganisms to increase the shelf life of foods. Nowadays, the use of natural preservatives derived from medicinal plants is increasing due to their greater compatibility and the presence of volatile compounds (Celik et al., 2007). The antimicrobial properties, antioxidant and anticancer effects of these natural additives have been proven (Tajkarimi et al., 2010). In this study, the antimicrobial activity enhancement effect of the combination of hydroalcoholic extracts of basil, cinnamon and salvia on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Saccharomyces cerevisiae* yeast in Iranian yoghurt drink (doogh) was investigated for 4 weeks at ambient temperature.

Materials and Methods: The milk was boiled in hygienic conditions at 95 °C for 5 min. After cooling to 45 °C, they were inoculated. The aerial parts of the studied plants were milled and powdered. Cinnamon, basil and salvia extracts were then soaked. The food strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 700728 and *Saccharomyces cerevisiae* PTCC 5193 were prepared as lyophilized ampoules. The microdilution broth method was used to determine the minimum inhibitory concentration. The minimum bactericidal concentration (MBC) was determined in accordance with the minimum inhibitory concentration (MIC) results. To determine the antimicrobial effect of the extracts on the yoghurt drink, 9 ml of the prepared yoghurt drink was poured into each test tube. Then 1 cc of each extract and 1 cc of microbial suspension (1.5×10^8 CFU / ml) were added. One tube was considered as positive control (bacteria + yoghurt drink), one negative control tube (extract + yoghurt drink) and one control tube (yoghurt drink only) and the tubes were placed at ambient temperature. Then, on day 7, 14, 21 and 30 during storage, 20 µl of each tube, were cultured on Muller Hinton agar medium and the same amount of yeast was cultured on blood agar medium. After incubation for 24 h at 37 °C, the colonies were counted. The interaction of antimicrobial activity of the combination of basil, cinnamon and sage extracts was evaluated on the basis of differential inhibitory concentration index (FIC).

Results and discussion: The results showed that the minimum inhibitory concentration of the combined basil, cinnamon and sage extracts against *Staphylococcus aureus* and *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli* were 0.4, 0.4 and 3.12 mg / ml, respectively. Also, *Staphylococcus aureus* was more susceptible to the extracts, which were used alone, and was inhibited by a lower concentration of used extract (Ahmadi et al., 2018). However, due to the maximum minimum inhibitory concentration (MIC), *Escherichia coli* was less sensitive to the extracts which was used alone. The combined usage of all three extracts significantly reduced the maximum minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC), indicating that their antimicrobial activity was more effective against the studied microorganisms than each of the extracts which was used alone. The results of this study showed that synergistic effect against *Staphylococcus aureus* and *Saccharomyces cerevisiae* was more effective with the combination of the aforementioned extracts ($p < 0.05$). The results of the *Escherichia coli* population counting during storage indicated that most of the extracts had a good effect on preventing the growth of *Escherichia coli* in the doogh environment compared to the control sample ($p < 0.05$). Addition of the extract significantly prevented pH reduction over time ($p < 0.05$), so that the control sample had the highest and the sample containing all three extracts showed the lowest pH changes over time ($p < 0.05$). Therefore, it can be concluded that acid production by *Lactobacillus* bacteria in samples containing extract during storage period was higher than control. The results of this study were in agreement with the results of Mortazavian et al., (2007) and Voosogh et al., (2009). The acidity of the doogh samples increased significantly over time ($P < 0.05$), while the addition of the extract significantly prevented the acidity increase over time

1, 2 and 3. Former MSc student, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Food Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran. ad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
(* - Corresponding Author Email: M.Bolandi@Damghaniau.ac.ir)

($P < 0.05$). Sensory properties are the main factors of acceptance and satisfaction of many products. In this study, the mean viewpoint of doogh samples containing the combination of the three above mentioned extracts in terms of taste, odor, color and general acceptance are acceptable. Additionally, it was found that about 90% of participants were willing to use it. Although studies of the overlapping or synergistic effects of medicinal plant extracts in real food environments are not extensive, their results have shown that, the addition of different medicinal plants compounds can increase antibacterial effects. Therefore, the simultaneous use of these extracts can be used in effective control of food pathogens as a complementary method. The results of this study were in agreement with the results of Karimi (2007).

Keywords: Antimicrobial effect of cinnamon, Basil, Salvia, Synergistic effects

تجزیه و تحلیل پروفیل بافتی (TPA) برش‌های سیب خشک‌شده با پرتودهی مادون قرمز با روش حرارت‌دهی متناوب

حسن صباغی¹ - امان محمد ضیائی‌فر^{2*} - مهدی کاشانی‌نژاد³

تاریخ دریافت: 1397/01/21

تاریخ پذیرش: 1398/02/09

چکیده

بافت از مهم‌ترین ویژگی‌های کیفی میوه‌ها طی خشک‌کردن است. آزمون تجزیه و تحلیل پروفیل بافت (TPA) برای بافت‌های بیولوژیکی ناهمگن بسیار مناسب است و همبستگی مناسبی با ارزیابی حسی نشان می‌دهد. در این پژوهش، بافت برش‌های سیب آب‌زدایی‌شده با پرتودهی مادون قرمز در سه دمای سطحی 70، 75 و 80 درجه سانتی‌گراد مطالعه شد. محصول در سه ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متر تا دستیابی به سطح نهایی رطوبت برابر با 15، 20 و 25 درصد بر حسب وزن مرطوب خشک شد. سپس، آزمون تجزیه و تحلیل پروفیل بافت (TPA) با فشردن تا 50 درصد تغییر شکل با دستگاه بافت‌سنج انجام گرفت. ارزیابی حسی برش‌های خشک‌شده نیز از نظر بافت مطلوب و پذیرش کلی صورت پذیرفت. جهت تجزیه و تحلیل آماری از طرح کاملاً تصادفی (CRD) در قالب فاکتوریل (3³) و آزمون دانکن با سطح اطمینان 95 درصد استفاده شد. نتایج نشان داد که خشک‌کردن تا سطوح رطوبتی مورد مطالعه موجب کاهش سختی و چسبندگی و افزایش فنری، انسجام، شاخص صمغی، قابلیت جویدن و قابلیت ارتجاعی نسبت به بافت سیب خام شد. پذیرش کلی و بافت مطلوب در نمونه‌های خشک‌شده در شدت کم تبخیر (دمای کمتر، ضخامت کمتر و سطح رطوبتی بیشتر) ملاحظه گردید. سختی بافت برش سیب در این شرایط برابر با 7/685±695/177 گرم بود. با افزایش ضخامت برش‌ها، انسجام و فنریت کاسته شد و در نتیجه قابلیت جویدن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. طی خشک‌کردن رفتار بافت از ویسکوالاستیک (سختی اولیه بالاتر و انسجام، فنریت و قابلیت ارتجاعی پایین‌تر) به الاستیک و سپس به پلاستیک یا شیشه‌ای تغییر کرد.

واژه‌های کلیدی: خشک‌کردن، تجزیه و تحلیل پروفیل بافت، سیب، پرتودهی مادون قرمز، ارزیابی حسی

مقدمه

بافت از مهم‌ترین ویژگی‌های کیفی مواد غذایی خشک‌شده است که نشان‌دهنده خصوصیات مکانیکی و ریزساختاری محصول می‌باشد. خواص ریزساختاری میوه‌ها به میزان زیادی تحت تاثیر شرایط خشک‌کردن است و تغییرات بافتی غیرقابل بازگشت به‌طوری سریع طی خشک‌کردن اتفاق می‌افتند که احتمال وقوع تخریب بافت را افزایش می‌دهند. بنابراین کنترل توسعه بافت طی خشک‌کردن می‌تواند در بهبود کیفیت بسیار مفید باشد (Martynenko & Janaszek, 2014). زیرا در صنایع غذایی خصوصیت کیفی محصول نهایی، به صورت برآیندی بین چندین پارامتر شامل خواص حسی (بافت و رنگ) و خصوصیات تکنولوژیکی و بهداشتی سنجیده می‌شود. مدیریت این خصوصیات از مرحله تولید، با هدف کنترل آن‌ها، کار آسانی نیست (Perrot et al., 2006).

یکی از فرآیندهای نوین در صنعت غذا، عملیات هم‌زمان بلانچینگ خشک مادون قرمز و آب‌زدایی⁴ (SIRDBD) میوه‌ها و سبزیجات با روش حرارت‌دهی متناوب در دمای ثابت می‌باشد که موجب افزایش کیفیت محصول نهایی می‌گردد (Zhu et al., 2010; Toğrul, 2006). خشک‌کردن و آب‌زدایی میوه‌ها و سبزیجات از عملیات واحد معمول در صنعت غذا است (Funebo et al., 2000). این فرآیند با کاهش فعالیت آبی، موجب حداقل‌سازی تغییرات فیزیکی و شیمیایی طی انبارش می‌گردد (Mayor & Sereno, 2004). تجاری‌سازی و دسترسی به میوه‌ها و سبزیجات به صورت اسنک و به‌عنوان محصولات آماده مصرف⁵ اهمیت زیادی دارد (Velickova et al., 2014). سیب نیز ماده‌ای فسادپذیر است و با توجه به این‌که اتلاف زیاد این میوه در صورت اشباع بودن فصلی بازار مشاهده می‌شود؛ خشک‌کردن آن اهمیت دارد (Falade & Aworh, 2004). حفظ خصوصیات کیفی سیب در فرآوری حرارتی اهمیت زیادی دارد (Vega-Gálvez et al., 2004).

پرتودهی در دماهای سطحی ثابت تا دستیابی به میزان رطوبت خاص انجام خواهد شد. در مرحله دوم، تجزیه و تحلیل دستگاهی بافت صورت می‌پذیرد. در مرحله سوم، ارزیابی حسی بافت انجام می‌گیرد و در نهایت ارزیابی بافت و پذیرش مطلوب محصول با داده‌های دستگاهی قابل انطباق خواهد بود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی برش‌های سیب

سیب واریته زرد لبنانی¹⁴ از بازار محلی خریداری شده و مطابق Acevedo و همکاران (2008) در دمای ± 1 صفر درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 90-95 درصد نگهداری شد. قبل از هر فرآیند حرارتی، نمونه‌های سیب از سردخانه خارج شده و پس از رسیدن به دمای محیط مورد استفاده قرار می‌گیرند. نمونه‌ها به‌صورت دستی پوست‌گیری شده و سپس در سه اندازه به صورت برش‌هایی با ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متر و با قطر 20 میلی‌متر آماده گردید. برش‌های سیب بلافاصله وارد عملیات همزمان بلانچینگ و خشک کردن مادون قرمز شدند.

عملیات حرارت‌دهی متناوب توسط خشک‌کن مادون قرمز

شکل 1 اجزای سیستم خشک‌کن اتوماتیک مادون قرمز مورد استفاده را مطابق سیستم Liu و همکاران (2014) نشان می‌دهد. این خشک‌کن شامل یک محفظه مکعب مستطیل بود. منبع تابش مادون قرمز از نوع سرامیکی با توان 1000 وات در داخل این محفظه قرار گرفت. فاصله محل قرارگیری نمونه تا منبع تابش برابر با 35 سانتی‌متر بود. دمای سطحی نمونه در محفظه خشک‌کن به‌طور مداوم با استفاده از ترموکوپل نوع K و سیستم کنترل‌کننده الکترونیکی (PLC، دلتا، آلمان) به‌صورت کنترل‌کننده تناسبی، انتگرال-مشتق‌گیر¹⁵ یا PID کنترل می‌گردد. جهت عملیات حرارتی متناوب مطابق آنچه Zhu و همکاران (2010) انجام دادند، سه دمای سطحی ثابت برابر با 70، 75، 80 درجه سانتی‌گراد انتخاب شد. جهت انجام آزمون بافت‌سنجی و ارزیابی حسی، برش‌های سیب پس از توزین اولیه در داخل خشک‌کن قرار گرفتند و تا دستیابی به سطح رطوبت 15، 20 و 25 درصد برحسب وزن مرطوب مطابق با سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) و براساس استاندارد میوه‌های خشک‌شده، فرآوری شدند. حد رطوبت

(2012; López et al., 2010). فرآیند خشک کردن ضمن کاهش وزن محصول موجب کاهش فضای مورد نیاز برای نگهداری آن خواهد شد (Cuccurullo et al., 2012).

از روش‌های زیادی برای توصیف رفتار ویسکوالاستیک میوه‌های خشک‌شده استفاده شده‌است. مدل‌های فشار یا ماکسول¹ برای توصیف بافت در سیستم‌های همگن² یا همسان‌گرد³ استفاده شده‌اند. در مقابل آزمون تجزیه و تحلیل پروفیل بافت⁴ (TPA) برای بافت‌های بیولوژیکی ناهمگن⁵ و مواد غذایی بسیار مناسب است و اهمیت زیادی از نظر خواص حسی برای مصرف‌کننده دارد. این آزمون همبستگی مناسبی با داده‌های مربوط به آزمون‌های حسی دارد. شاخص‌هایی از جمله سختی⁶، چسبندگی⁷، فنری⁸ یا برگشت‌پذیری⁹، انسجام¹⁰، حالت صمغی¹¹، قابلیت جویدن¹² و قابلیت ارتجاعی¹³ برای بافت در این آزمون قابل بررسی هستند (Martynenko & Janaszek, 2014; Krokida, (Maity et al., 2012). همکاران (2000) دو دوره تغییرات را برای پارامترهای بافتی در سیب طی خشک کردن با هوای داغ گزارش کردند که به صورت کاهش سختی در آغاز خشک کردن و افزایش سختی در محتوی رطوبت کمتر از 1/8 gr/gr,db بود. Khin و همکاران (2007) خصوصیات بافتی برش‌های مکعبی سیب پوشش داده‌شده با مالتودکسترین را طی آب‌زدایی اسمزی بررسی نمودند. نتایج نشان داد که بافت سیب به طور معنی‌داری تحت تاثیر همبستگی ساختاری سلول‌ها و محتوی نهایی آب محصول است. Martynenko و Janaszek (2014) تغییرات بافتی برش‌های سیب را طی خشک کردن با هوای داغ بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند که تغییرات بافتی سیب به ترتیب در سه فاز مختلف به صورت دوره نرم شوندگی، سختی یکنواخت و دوره سخت شدن اتفاق می‌افتد. در دوره سخت شدن پارامترهای بافتی وابستگی زیادی به دما دارند. Chong و همکاران (2014) آزمون تجزیه و تحلیل پروفیل بافتی را روی برش‌های مکعبی سیب خشک‌شده با روش‌های ترکیبی پمپ حرارتی و مایکروویو در خلاء انجام دادند. نتایج نشان داد که خشک کردن ترکیبی با کاربرد مایکروویو و خلاء کمترین میزان سختی و قابلیت جویدن را موجب شد. در این پژوهش، برای نخستین بار تجزیه و تحلیل بافتی برش‌های سیب خشک‌شده با حرارت‌دهی مادون قرمز انجام می‌گیرد. بدین منظور در مرحله اول، خشک کردن برش‌های سیب با ضخامت مختلف با

8 Springiness

9 Elasticity

10 Cohesiveness

11 Gumminess

12 Chewiness

13 Resilience

14 Golden delicious

15 Proportional-integral-derivative

1 Maxwell

2 Homogeneous

3 Isotropic

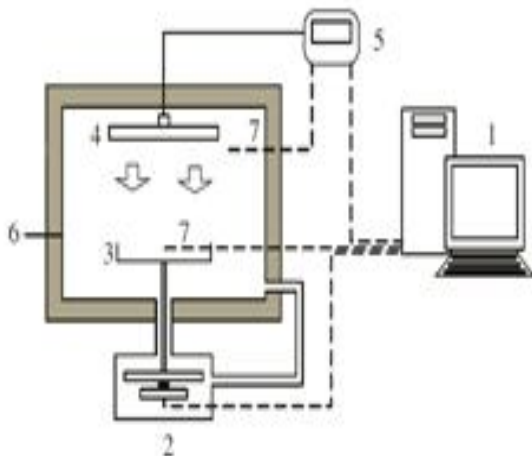
4 Texture profile analysis

5 Heterogeneous

6 Hardness

7 Adhesiveness

انتخاب‌شده کمی پایین‌تر (15 درصد) و کمی بالاتر (25 درصد) از میزان استاندارد (20 درصد) است تا تاثیر آن بر ارزیابی حسی نیز بررسی گردد.

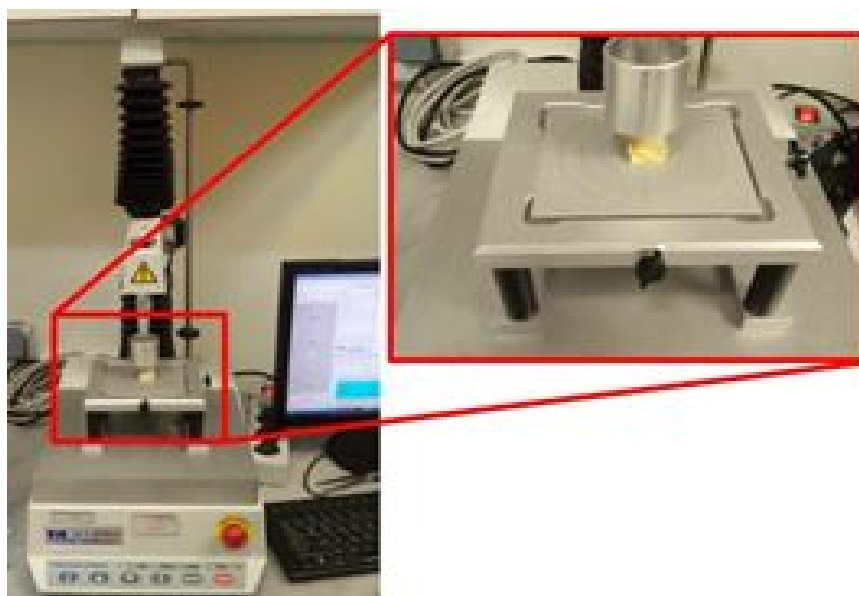


شکل 1- سیستم خشک‌کن مادون قرمز و لوازم آن، (1) کامپیوتر (2) ترازو (3) سینی نمونه (4) تابش‌کننده سرامیکی مادون قرمز (5) کنترل‌کننده الکترونیکی (PLC) (6) محفظه خشک‌کن (7) دو ترموکوپل‌های نوع K برای ارزیابی دمای تابش‌دهنده‌ها و کنترل دمای سطحی محصول

میلی‌متر مطابق شکل 2 استفاده شد. دستگاه به‌نحوی برنامه‌ریزی شد که پروب از 10 میلی‌متری بالای سطح نمونه حرکت خود را آغاز نماید. برای پروب نیروی رهاساز برابر با 5 گرم و سرعت حرکت پیش از آزمون، حین آزمون و پس از آزمون به‌ترتیب برابر 1، 5 و 5 میلی‌متر بر ثانیه در نظر گرفته‌شد.

بافت سنجی

مطابق Loredو و همکاران (2013)، آزمون تجزیه و تحلیل پروفیل بافت (TPA) با فشردن تا 50 درصد تغییر شکل با دستگاه بافت‌سنج انجام‌شد. بدین منظور از یک پروب سیلندری با قطر 20



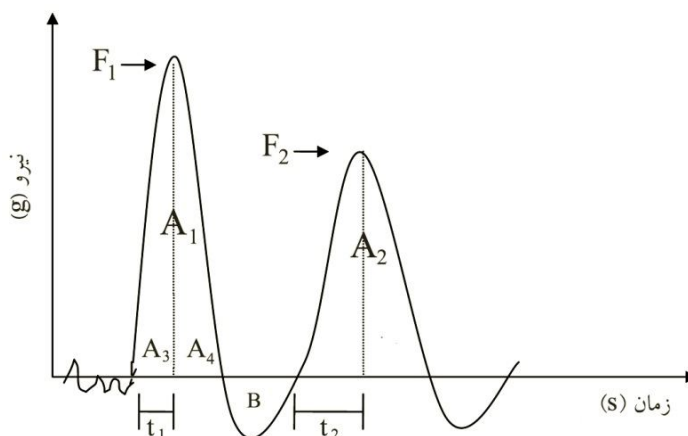
شکل 2- آزمون تجزیه و تحلیل پروفیل بافت (TPA)

تجزیه و تحلیل پروفیل بافت

براساس Chong و همکاران (2008) از دو سیکل منحنی فشرده‌سازی مطابق شکل 3 پارامترهایی مانند حداکثر نیرو در سیکل اول (F_1)، حداکثر نیرو در سیکل دوم (F_2)، مساحت سطح زیر منحنی اول (A_1)، مساحت سطح زیر منحنی دوم (A_2)، مساحت سطح زیر منحنی اول در قسمت صعودی (A_3)، مساحت سطح زیر منحنی اول در قسمت نزولی (A_4)، مساحت منفی میان دو سیکل فشرده‌سازی (B)، مدت زمان لازم برای شروع حالت نزولی در منحنی اول از ابتدای مثبت محور عرضی (t_1)، مدت زمان لازم برای شروع حالت نزولی در منحنی دوم از ابتدای مثبت محور عرضی (t_2) برای محاسبه شاخص‌های ارزیابی حسی استخراج شد. این شاخص‌ها شامل سختی (H) مطابق رابطه (1)، چسبندگی (Ad) مطابق رابطه (2)، فنریت (Sp)

مطابق رابطه (3)، انسجام (Co) مطابق رابطه (4)، شاخص صمغی (G) مطابق رابطه (5)، قابلیت جویدن (CW) مطابق رابطه (6) و قابلیت ارتجاعی (Re) مطابق رابطه (7) است.

- (1) $H = F_1$
- (2) $Ad = B$
- (3) $Sp = t_2 / t_1$
- (4) $Co = A_2 / A_1$
- (5) $G = H \cdot Co$
- (6) $CW = H \cdot Co \cdot Sp$
- (7) $Re = A_4 / A_3$



شکل 3- شکل معمول نمودار نیرو-زمان برای آزمون تجزیه و تحلیل پروفیل بافت (TPA)

ارزیابی حسی

آموزش دیده انجام شد. نمره‌دهی کیفیت مطابق Barrett و همکاران (2010) براساس اطلاعات جدول 1 با نمره‌دهی بین 1 تا 10 انجام شد. نمره 1 و 10 به ترتیب نشان‌دهنده کمترین و بیشترین مطلوبیت بود.

ارزیابی حسی بافت و پذیرش کلی محصول به روش هدونیک مطابق کار Kupongsak و Tan (2006) توسط 10 نفر ارزیاب

جدول 1- اطلاعات آموزش نحوه قضاوت حسی درباره برش‌های آب‌زدایی شده سیب برای ارزیاب‌ها

ویژگی‌های عمومی مطلوب	خاصیت حسی
احساس دهانی مطلوب از نظر بافت، عدم سختی بافت، عدم چروکیدگی	بافت
مطلوبیت نهایی محصول از نظر مجموع خواص حسی شامل رنگ، بافت، عطر و طعم	پذیرش کلی

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای بررسی آماری تأثیر سه فاکتور ضخامت (در سه سطح) و دما (در سه سطح) و درصد رطوبت (در سه سطح) روی هر یک از شاخص‌های بافتی آزمون پروفیل بافت و نمرات ارزیابی حسی؛ از طرح کاملاً تصادفی (CRD) در قالب فاکتوریل (3^3) استفاده شد. مقایسه

میانگین به صورت آزمون دانکن با سطح اطمینان 95 درصد ($P < 0/05$) انجام گرفت. آزمایشات پروفیل بافت و آزمون حسی به ترتیب در سه و ده تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری در نرم‌افزار SPSS نسخه 19 انجام شد.

نتایج و بحث

سختی بافت

جدول 2 مقایسه میانگین و انحراف معیار شاخص سختی بافت برحسب گرم را برای برش‌های سیب در ضخامت‌های مختلف تحت تاثیر فاکتورهای مورد آزمون نشان می‌دهد. جدول 3 تجزیه واریانس را برای این مقایسه نشان می‌دهد. شاخص سختی برش‌های سیب با افزایش دمای سطحی طی پرتودهی همواره به‌طور معنی‌داری زیاد شد. همچنین با افزایش ضخامت یا کاهش درصد رطوبت برش‌های سیب نیز شاخص سختی بافت زیاد شد. میزان سختی برای برش‌های سیب

خام (شاهد) در ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متر به‌ترتیب 120/467 ± 4272/790، 99/513 ± 5428/437 و 132/402 ± 6145/988 برحسب گرم بود. همان‌طور که مشخص است، طی خشک‌کردن مادون‌قرمز تا سطوح رطوبتی مورد آزمون؛ نرم‌شدگی مشاهده شده‌است. در واقع، با کاهش رطوبت در برش سیب و شکل‌گیری فضاهای متخلخل سختی محصول نسبت به برش‌های خام کاهش یافت و در دماهای بالا به دلیل خروج سریع‌تر رطوبت بافت محصول سخت‌تر مشاهده شد. در ضخامت زیاد می‌تواند کاهش اثر منافذ متخلخل به دلیل ماده جامد بیشتر محصول عامل زیاد شدن سختی بافت باشد.

جدول 2- مقایسه میانگین سختی بافت (گرم) برش سیب تحت تاثیر تیمارهای مختلف

ضخامت (mm)	دما (°C)	رطوبت (%)		
		25	20	15
5	70	695/177 ± 7/685 ^{Ccγ}	968/816 ± 8/974 ^{Ccβ}	1043/343 ± 28/252 ^{Ccα}
	75	734/024 ± 23/106 ^{Bcγ}	1140/889 ± 28/246 ^{Bcβ}	1236/886 ± 36/632 ^{Bcα}
	80	783/881 ± 8/691 ^{Acγ}	1216/372 ± 25/578 ^{Acβ}	1364/948 ± 51/286 ^{Acα}
9	70	845/444 ± 24/524 ^{Cbγ}	1075/08 ± 11/192 ^{Cbβ}	1242/727 ± 12/209 ^{Cbα}
	75	848/542 ± 22/637 ^{Bbγ}	1166/455 ± 14/477 ^{Bbβ}	1338/054 ± 44/725 ^{Bbα}
	80	960/929 ± 24/587 ^{Abγ}	1157/81 ± 19/252 ^{Abβ}	1451/284 ± 21/561 ^{Abα}
13	70	922/886 ± 18/686 ^{Caγ}	1257/77 ± 25/270 ^{Caβ}	1338/425 ± 36/954 ^{Caα}
	75	950/151 ± 42/304 ^{Bay}	1337/078 ± 20/670 ^{Baβ}	1466/305 ± 29/231 ^{Baα}
	80	961/083 ± 23/634 ^{Aaγ}	1347/878 ± 43/692 ^{Aaβ}	1497/476 ± 10/964 ^{Aaα}

* حروف لاتین بزرگ مقایسه بین دماهای آزمون و حروف لاتین کوچک مقایسه بین ضخامت برش‌ها است؛ حروف یونانی مقایسه بین درصد رطوبت را نشان می‌دهد (P<0/05)؛ حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است، (M±SD).

جدول 3- تجزیه واریانس برای تاثیر فاکتورهای مورد آزمون روی سختی بافت برش‌های سیب (P<0/05)

معنی‌داری	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	مدل
0/000	5325/368	3949173/898	27	1/066 × 10 ⁸	مدل
0/000	208/899	154915/054	2	309830/108	دما
0/000	403/721	299390/425	2	598780/851	ضخامت
0/000	2158/488	1600686/612	2	3201373/225	رطوبت
0/000	13/485	10000/167	4	40000/668	دما × ضخامت
0/000	21/037	15600/868	4	62403/471	دما × رطوبت
0/000	17/070	12658/715	4	50634/862	ضخامت × رطوبت
0/004	3/308	2453/371	8	19626/969	دما × ضخامت × رطوبت
		741/578	54	40045/191	خطا
			81	1/067 × 10 ⁸	کل

دمای بالاتر سختی کمتری مشاهده کردند اما نتایج تحقیق حاضر با نتایج بسیاری از پژوهشگران دیگر سازگاری دارد. Kotwaliwale و همکاران (2007) افزایش سختی را ناشی از خروج رطوبت بیشتر

در همین راستا، Martynenko و Janaszek (2014) گزارش کردند که سختی بافت طی خشک‌کردن برش‌های سیب کاهش یافت. اگرچه آن‌ها بر خلاف پژوهش حاضر برای برش‌های فرآوری‌شده در

محصول دانستند و بیان کردند که مدت زمان کوتاه‌تر برای دستیابی به سطح رطوبتی پایین (دمای بالاتر فرآوری) موجب سختی بیشتر خواهد شد. Cuccurullo و همکاران (2012) نیز سختی سیب را مرتبط با قدرت پیوندهای داخلی محصول دانستند اما میان دماها و روش‌های مختلف خشک کردن اختلاف معنی‌داری مشاهده نکردند.

چسبندگی بافت

جدول 4 مقایسه میانگین و انحراف معیار شاخص چسبندگی بافت برحسب گرم در ثانیه را برای تیمارهای مختلف مورد آزمون نشان می‌دهد.

بیان کردند. آن‌ها سختی بیشتر نمونه‌های خشک‌شده در دمای بالاتر را ناشی از خروج سریع رطوبت دانستند که موجب فروپاشی حفرات موئینی¹ درون محصول می‌گردد. Acevedo و همکاران (2008) بیان کردند که بروز چروکیدگی بیشتر موجب متراکم‌تر شدن نمونه‌ها شد و در نتیجه نیروی شکست بیشتری برای نمونه‌ها انتظار می‌رود. همچنین آن‌ها بیان کردند که با افزایش محتوی رطوبت (به معنی رطوبت نسبی یا RH بیشتر) آب روی دیواره سلولی خاصیت پلاستیک‌کنندگی دارد و بنابراین برش میوه نرم‌تر و انعطاف‌پذیرتر شد و سختی آن کمتر بود. Chong و همکاران (2014) افزایش در سختی را ناشی از انتقال جرم سریع و آسیب‌دیدگی غشاء و ساختار سلولی دانستند. آن‌ها عامل دیگر سختی را سطح رطوبت نهایی پایین در

جدول 4- مقایسه میانگین چسبندگی بافت (گرم در ثانیه) برش سیب تحت تاثیر تیمارهای مختلف

ضخامت (mm)	دما (°C)	رطوبت (%)		
		25	20	15
5	70	-2/317±0/151 ^{Aca}	-1/275±0/208 ^{Acβ}	-0/829±0/078 ^{Acy}
	75	-2/277±0/122 ^{ABca}	-1/243±0/153 ^{ABcβ}	-0/810±0/096 ^{ABcy}
	80	-2/262±0/241 ^{Bca}	-1/177±0/163 ^{Bcβ}	-0/794±0/133 ^{Bcy}
9	70	-5/670±0/189 ^{Abα}	-4/497±0/341 ^{Abβ}	-3/508±0/253 ^{Abγ}
	75	-5/614±0/344 ^{ABba}	-4/343±0/179 ^{ABbβ}	-3/424±0/376 ^{ABby}
	80	-5/328±0/170 ^{Bba}	-4/099±0/107 ^{Bbβ}	-3/283±0/264 ^{Bby}
13	70	-8/035±0/303 ^{Aaα}	-6/618±0/024 ^{Aaβ}	-5/440±0/264 ^{Aaγ}
	75	-7/831±0/191 ^{ABaα}	-6/539±0/154 ^{ABaβ}	-5/400±0/196 ^{ABaγ}
	80	-7/819±0/287 ^{Baα}	-6/535±0/190 ^{Baβ}	-5/245±0/138 ^{Baγ}

* حروف لاتین بزرگ مقایسه بین دماهای آزمون و حروف لاتین کوچک مقایسه بین ضخامت برش‌ها است؛ حروف یونانی مقایسه بین درصد رطوبت را نشان می‌دهد (P<0/05)؛ حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است، (M±SD).

جدول 5- تجزیه واریانس برای تاثیر فاکتورهای مورد آزمون روی چسبندگی بافت برش‌های سیب

معنی‌داری	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	مدل
0/000	1465/856	67/512	27	1822/824	دما
0/011	4/941	0/228	2	0/455	ضخامت
0/000	3938/840	181/409	2	362/817	رطوبت
0/000	620/192	28/564	2	57/128	دما × ضخامت
0/433	0/967	0/045	4	0/178	دما × رطوبت
0/995	0/050	0/002	4	0/009	ضخامت × رطوبت
0/000	15/038	0/693	4	2/770	دما × ضخامت × رطوبت
0/993	0/179	0/008	8	0/066	خطا
		0/046	54	2/487	کل
			81	1825/311	

کاهش محتوی رطوبت و آب آزاد در سطح نمونه و در نتیجه کاهش تعامل آن با محتوی قند نمونه، کاسته شد. Nishinari و همکاران (2013) چسبندگی را به اجزای ویسکوز و رفتار خیس‌کنندگی محصول نیز مرتبط دانستند.

فتریت بافت

جدول 6 مقایسه میانگین و انحراف معیار شاخص فتریت بافت برش‌های سیب تحت تیمارهای مختلف مورد آزمون را نشان می‌دهد. تجزیه واریانس در جدول 7 مشخص است و اختلاف میان سطوح فاکتورهای مورد آزمون شامل ضخامت برش، دمای سطحی و رطوبت نمونه‌ها از نظر شاخص فتریت بافت معنی‌دار بود.

در جدول 5 تجزیه واریانس مشخص است. با افزایش سطح رطوبت برش‌های سیب نیروی منفی چسبندگی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که عامل آن نرمی بیشتر محصول و تعامل رطوبت با سطح می‌تواند باشد. همچنین با افزایش ضخامت نیز روند افزایشی معنی‌دار در چسبندگی مشاهده شد که می‌تواند ناشی از نیروی وزن بیشتر برش‌ها هم باشد. با افزایش دمای سطحی طی پرتودهی نیز نیروی چسبندگی به‌طور معنی‌دار کاهش نشان‌داد که به دلیل سختی بیشتر برش‌ها می‌تواند باشد. مقدار نیروی چسبندگی برای برش‌های خام با ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متری به‌ترتیب برابر $103/298 \pm 3/119$ ، $86/304 \pm 5/207$ و $63/543 \pm 2/885$ برحسب گرم در ثانیه بود. طی پرتودهی تغییرات نیروی چسبندگی در برش‌های ضخیم کمتر بود. Janaszek و Martynenko (2014) بیان کردند که چسبندگی با

جدول 6- مقایسه میانگین شاخص فتریت بافت برش سیب تحت تاثیر تیمارهای مورد آزمون

رطوبت (%)			دما	ضخامت
25	20	15	(°C)	(mm)
$0/679 \pm 0/010^{Ca\gamma}$	$0/696 \pm 0/034^{Ca\beta}$	$0/720 \pm 0/014^{Ca\alpha}$	70	5
$0/720 \pm 0/024^{Ba\gamma}$	$0/730 \pm 0/029^{Ba\beta}$	$0/802 \pm 0/023^{Ba\alpha}$	75	
$0/673 \pm 0/035^{Aa\gamma}$	$0/693 \pm 0/010^{Aa\beta}$	$0/728 \pm 0/015^{Aa\alpha}$	80	
$0/468 \pm 0/037^{Cb\gamma}$	$0/561 \pm 0/013^{Cb\beta}$	$0/614 \pm 0/032^{Cb\alpha}$	70	9
$0/503 \pm 0/006^{Bb\gamma}$	$0/538 \pm 0/021^{Bb\beta}$	$0/575 \pm 0/018^{Bb\alpha}$	75	
$0/571 \pm 0/011^{Ab\gamma}$	$0/671 \pm 0/013^{Ab\beta}$	$0/723 \pm 0/018^{Ab\alpha}$	80	
$0/523 \pm 0/012^{Cc\gamma}$	$0/524 \pm 0/011^{Cc\beta}$	$0/549 \pm 0/017^{Cc\alpha}$	70	13
$0/533 \pm 0/046^{Bc\gamma}$	$0/543 \pm 0/018^{Bc\beta}$	$0/556 \pm 0/022^{Bc\alpha}$	75	
$0/520 \pm 0/020^{Ac\gamma}$	$0/528 \pm 0/014^{Ac\beta}$	$0/538 \pm 0/002^{Ac\alpha}$	80	

* حروف لاتین بزرگ مقایسه بین دماهای آزمون و حروف لاتین کوچک مقایسه بین ضخامت برش‌ها است؛ حروف یونانی مقایسه بین درصد رطوبت را نشان می‌دهد ($P < 0/05$); حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است، ($M \pm SD$).

جدول 7- تجزیه واریانس برای تاثیر فاکتورهای مورد آزمون روی فتریت بافت برش‌های سیب

معنی‌داری	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	
0/000	2294/010	1/144	27	30/892	مدل
0/000	15/993	0/008	2	0/016	دما
0/000	477/392	0/238	2	0/476	ضخامت
0/000	59/977	0/030	2	0/060	رطوبت
0/000	38/548	0/019	4	0/077	دما × ضخامت
0/569	0/740	0/000	4	0/001	دما × رطوبت
0/000	14/141	0/007	4	0/028	ضخامت × رطوبت
0/046	2/154	0/001	8	0/009	دما × ضخامت × رطوبت
		0/000	54	0/027	خطا
			81	30/919	کل

گزارش کردند. آن‌ها کاهش شاخص فنریت را به پدیده انتقال شیشه‌ای و تغییر از رفتار الاستیک به پلاستیک مرتبط دانستند. Chung و همکاران (2014) بیان کردند که روش‌های مختلف خشک کردن میزان شاخص فنریت بافت تقریباً مشابهی را نشان می‌دهند.

انسجام بافت

جدول 8 مقایسه میانگین و انحراف معیار انسجام بافت در برش‌های سیب تحت تیمارهای مختلف مورد آزمون را نشان می‌دهد. تجزیه واریانس در جدول 9 نشان داده شده است.

شاخص فنریت بافت برای برش‌های سیب خام با ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متر به ترتیب $0/645 \pm 0/030$ ، $0/551 \pm 0/019$ و $0/434 \pm 0/028$ بود. شاخص فنریت بافت با افزایش ضخامت کاهش یافت. با افزایش دمای سطحی طی پرتودهی شاخص فنریت بافت بیشتر شد. با افزایش سطح رطوبت برش‌های سیب نیز شاخص فنریت بافت کاهش نشان داد. فنریت بافت برش‌های سیب تحت تأثیر مستقیم الاستیسیته می‌تواند باشد. با افزایش ضخامت یا کاهش دمای پرتودهی یا افزایش سطح رطوبت برگشت‌پذیری بافت محصول کاهش می‌یابد. Martynenko و Janaszek (2014) نتایج مشابهی را

جدول 8- مقایسه میانگین شاخص انسجام بافت برش سیب تحت تأثیر تیمارهای مورد آزمون

رطوبت (%)			دما	ضخامت
25	20	15	(°C)	(mm)
$0/633 \pm 0/025^{Aaa}$	$0/629 \pm 0/015^{Aa\beta}$	$0/625 \pm 0/018^{Aa\gamma}$	70	5
$0/664 \pm 0/008^{Aaa}$	$0/651 \pm 0/015^{Aa\beta}$	$0/632 \pm 0/029^{Aa\gamma}$	75	
$0/616 \pm 0/010^{Baa}$	$0/570 \pm 0/019^{Ba\beta}$	$0/536 \pm 0/020^{Ba\gamma}$	80	
$0/637 \pm 0/005^{Ab\alpha}$	$0/628 \pm 0/013^{Ab\beta}$	$0/581 \pm 0/007^{Ab\gamma}$	70	9
$0/587 \pm 0/022^{Ab\alpha}$	$0/568 \pm 0/021^{Ab\beta}$	$0/442 \pm 0/021^{Ab\gamma}$	75	
$0/577 \pm 0/016^{Bb\alpha}$	$0/563 \pm 0/017^{Bb\beta}$	$0/523 \pm 0/010^{Bb\gamma}$	80	
$0/547 \pm 0/017^{Aca}$	$0/512 \pm 0/017^{Ac\beta}$	$0/448 \pm 0/011^{Ac\gamma}$	70	13
$0/545 \pm 0/008^{Aca}$	$0/542 \pm 0/013^{Ac\beta}$	$0/541 \pm 0/020^{Ac\gamma}$	75	
$0/539 \pm 0/009^{Bca}$	$0/526 \pm 0/004^{Bc\beta}$	$0/463 \pm 0/018^{Bc\gamma}$	80	

* حروف لاتین بزرگ مقایسه بین دماهای آزمون و حروف لاتین کوچک مقایسه بین ضخامت برش‌ها است؛ حروف یونانی مقایسه بین درصد رطوبت را نشان می‌دهد ($P < 0/05$)؛ حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است، ($M \pm SD$).

جدول 9- تجزیه واریانس برای تأثیر فاکتورهای مورد آزمون روی انسجام بافت برش‌های سیب

معنی‌داری	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	
0/000	3487/785	0/979	27	26/430	مدل
0/000	35/157	0/010	2	0/020	دما
0/000	236/768	0/066	2	0/133	ضخامت
0/000	82/504	0/023	2	0/046	رطوبت
0/000	43/653	0/012	4	0/049	دما × ضخامت
0/137	1/827	0/001	4	0/002	دما × رطوبت
0/000	12/494	0/004	4	0/014	ضخامت × رطوبت
0/000	9/800	0/003	8	0/022	دما × ضخامت × رطوبت
		0/000	54	0/015	خطا
			81	26/445	کل

نظر با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند. با کاهش سطح رطوبت برش‌های سیب نیز انسجام بافت به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. انسجام بافت در برش‌های خام با ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متر به ترتیب برابر

به‌طور کلی با افزایش ضخامت برش‌های سیب انسجام بافت به‌طور معنی‌داری کاسته شد. دمای سطحی 80 درجه سانتی‌گراد کمترین انسجام بافت را نشان داد و دماهای 70 و 75 درجه سانتی‌گراد از این

بافت در فرآوری در دمای بالا را ناشی از ساختار شکننده نمونه‌ها در بارگذاری بیشتر دانستند.

شاخص صمغی بافت

جدول 10 مقایسه میانگین و انحراف معیار شاخص صمغی بافت را برای برش‌های سیب در فاکتورهای مورد مطالعه نشان می‌دهد. جدول 11 تجزیه واریانس را مشخص می‌کند.

0/066±0/005، 0/057±0/004 و 0/042±0/003 بود. انسجام بافت برش‌های میوه با نسبت رطوبت به ماده جامد محصول به‌طور مستقیم مرتبط است. ضخامت بیشتر محصول با داشتن سختی بیشتر؛ انسجام کمتری را نشان می‌دهد. Janaszek و Martynenko (2014) پایین بودن انسجام بافت را در نمونه خام ناشی از باقی‌مانده تغییر شکل سطح نمونه در نقطه تماس دانستند. آن‌ها بیان کردند که حین نرم شدن در اثر فرآوری انسجام بافت افزایش می‌یابد و سخت‌شدگی (رطوبت کمتر) باعث کاهش انسجام بافت می‌گردد. این پژوهشگران کم بودن انسجام

جدول 10- مقایسه میانگین شاخص صمغی بافت برش سیب تحت تاثیر تیمارهای مورد آزمون

رطوبت (%)			دما	ضخامت
25	20	15	(°C)	(mm)
440/417±22/294 ^{Bay}	609/384±9/597 ^{Baβ}	653/146±33/547 ^{Baα}	70	5
487/765±16/805 ^{Aaγ}	744/147±36/181 ^{Aaβ}	782/42±37/457 ^{Aaα}	75	
483/353±6/143 ^{Aaγ}	652/622±35/373 ^{Aaβ}	778/24±31/9 ^{Aaα}	80	
538/724±12/225 ^{Bay}	675/38±12/895 ^{Baβ}	722/348±16/113 ^{Baα}	70	9
498/524±8/058 ^{Aaγ}	662/807±17/743 ^{Aaβ}	590/861±9/992 ^{Aaα}	75	
555/189±13/364 ^{Aaγ}	652/921±30/893 ^{Aaβ}	760/163±18/585 ^{Aaα}	80	
505/708±23/376 ^{Bay}	644/208±10/94 ^{Baβ}	600/01±1/674 ^{Baα}	70	13
517/791±14/475 ^{Aaγ}	726/146±29/123 ^{Aaβ}	794/302±37/328 ^{Aaα}	75	
518/218±4/111 ^{Aaγ}	710/128±23/836 ^{Aaβ}	693/439±24/167 ^{Aaα}	80	

* حروف لاتین بزرگ مقایسه بین دماهای آزمون و حروف لاتین کوچک مقایسه بین ضخامت برش‌ها است؛ حروف یونانی مقایسه بین درصد رطوبت را نشان می‌دهد (P<0/05)؛ حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است، (M±SD).

جدول 11- تجزیه واریانس برای تاثیر فاکتورهای مورد آزمون روی شاخص صمغی بافت برش‌های سیب

معنی‌داری	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	
0/000	2381/819	1221024/229	27	32967654/171	مدل
0/000	37/363	19153/833	2	38307/666	دما
0/360	1/042	534/115	2	1068/230	ضخامت
0/000	626/560	321201/863	2	642403/727	رطوبت
0/000	39/757	20380/994	4	81523/977	دما × ضخامت
0/000	10/257	5258/365	4	21033/458	دما × رطوبت
0/000	16/028	8216/471	4	32865/885	ضخامت × رطوبت
0/000	11/103	5691/906	8	45535/247	دما × ضخامت × رطوبت
		512/644	54	27682/752	خطا
			81	32995336/923	کل

2). میان ضخامت‌های مختلف مورد آزمون از نظر شاخص صمغی بافت اختلاف معنی‌دار مشاهده‌نشده که احتمالاً دلیل آن تردی یکسان ضخامت‌های مختلف می‌باشد. شاخص صمغی بافت برای برش‌های خام سیب با ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متر به‌ترتیب برابر 41/245

دمای 70 درجه سانتی‌گراد شاخص صمغی کمتری را نشان داد و از این نظر با دو دمای 75 و 80 درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌دار داشت. شاخص صمغی بافت با افزایش سطح رطوبت همواره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که نشان‌دهنده سختی کمتر و کاهش سفتی است (جدول

دمای فرآیند تغییرات معنی‌داری در شاخص صمغی سیب مشاهده نکردند.

قابلیت جویدن بافت

جدول 12 مقایسه میانگین و انحراف معیار قابلیت جویدن بافت برش‌های سیب را تحت تاثیر تیمارهای مورد آزمون نشان می‌دهد. جدول 13 تجزیه واریانس را نشان می‌دهد.

$281/803 \pm 75/829$ و $355/519 \pm 72/432$ بود. شاخص صمغی بافت خام کمتر از شاخص صمغی برش‌های آب‌زدایی شده است که این امر نشان‌دهنده ایجاد تردی در بافت طی فرآوری است. در واقع، Bourles و همکاران (2009) شاخص صمغی را به عنوان انرژی مورد نیاز برای آماده‌سازی غذا جهت بلع تعریف کردند و مقدار کم آن را به معنی نرمی و مقدار بیشتر آن را به معنی سفتی یا تردی با ایجاد حالت شکستگی سلولی دانستند. Cuccurullo و همکاران (2012) با افزایش

جدول 12- مقایسه میانگین قابلیت جویدن بافت برش سیب تحت تاثیر تیمارهای مورد آزمون

ضخامت (mm)	دما (°C)	رطوبت (%)		
		25	20	15
5	70	307/018±25/329 ^{Baγ}	414/007±13/069 ^{Baβ}	470/572±32/726 ^{Baα}
	75	351/584±21/755 ^{Aaγ}	543/676±35/645 ^{Aaβ}	627/939±40/156 ^{Aaα}
	80	325/489±13/362 ^{Aaγ}	452/396±22/868 ^{Aaβ}	567/138±35/185 ^{Aaα}
9	70	252/661±22/628 ^{Bbγ}	379/527±16/553 ^{Bbβ}	443/955±15/892 ^{Bbα}
	75	250/933±7/083 ^{Abγ}	357/143±21/725 ^{Abβ}	340/129±14/865 ^{Bbα}
	80	317/147±2/387 ^{Abγ}	438/338±13/610 ^{Abβ}	549/582±6/773 ^{Bbα}
13	70	264/869±12/197 ^{Acγ}	338/087±11/897 ^{Acβ}	329/971±11/579 ^{Acα}
	75	275/987±18/491 ^{Bcγ}	394/614±22/099 ^{Bcβ}	441/321±3/879 ^{Bcα}
	80	269/522±10/723 ^{Bcγ}	375/324±12/826 ^{Bcβ}	373/623±14/452 ^{Bcα}

* حروف لاتین بزرگ مقایسه بین دماهای آزمون و حروف لاتین کوچک مقایسه بین ضخامت برش‌ها است؛ حروف یونانی مقایسه بین درصد رطوبت را نشان می‌دهد.
($P < 0/05$): حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است، ($M \pm SD$).

جدول 13- تجزیه واریانس برای تاثیر فاکتورهای مورد آزمون روی قابلیت جویدن بافت برش‌های سیب

معنی‌داری	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	
0/000	1180/670	479099/244	27	12935679/590	مدل
0/000	51/014	20700/790	2	41401/580	دما
0/000	218/685	88739/482	2	177478/964	ضخامت
0/000	507/010	205733/520	2	411475/039	رطوبت
0/000	58/581	23771/312	4	95085/246	دما × ضخامت
0/001	5/641	2288/973	4	9155/891	دما × رطوبت
0/000	18/999	7709/592	4	30838/368	ضخامت × رطوبت
0/000	9/459	3838/165	8	30705/323	دما × ضخامت × رطوبت
		405/786	54	21912/442	خطا
			81	12957592/032	کل

قابلیت جویدن کمتری نشان‌دادند و از این نظر با دو دمای 75 و 80 درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌دار بود. با افزایش سطح رطوبت در برش‌های سیب قابلیت جویدن همواره به‌طور معنی‌داری کم شد. شاخص قابلیت جویدن بافت برای برش‌های خام سیب با ضخامت 5.

قابلیت جویدن با افزایش ضخامت برش‌های سیب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در واقع، با افزایش ضخامت برش‌ها، انسجام و فنریت کاسته شد و در نتیجه قابلیت جویدن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نمونه‌های فرآوری شده در دمای 70 درجه سانتی‌گراد

نشان‌دهنده تجزیه واریانس است. قابلیت ارتجاعی با افزایش ضخامت برش‌ها زیاد شد؛ با افزایش دمای سطحی طی پرتودهی افزایش یافت و در نهایت با افزایش سطح رطوبت در نمونه‌ها کاهش نشان داد. شاخص قابلیت ارتجاعی بافت برای برش‌های خام سیب با ضخامت 5، 9 و 13 میلی‌متر به ترتیب برابر $0/027 \pm 0/002$ ، $0/036 \pm 0/001$ و $0/004 \pm 0/042$ بود. Janaszek و Martynenko (2014) نیز افزایش قابلیت ارتجاعی را با کاهش رطوبت مشاهده نمودند. آنها در مجموع گزارش کردند که طی خشک‌کردن بافت برش‌های سیب از رفتار ویسکوالاستیک به الاستیک و سپس از الاستیک به پلاستیک یا شیشه‌ای ممکن است تغییر نماید. این تغییرات به زمان، دما و محتوی رطوبت ارتباط دارند. آنها سختی اولیه بالا به همراه انسجام، فنریت و قابلیت ارتجاعی پایین در سیب خام را شاهدی بر وضعیت ویسکوالاستیک دانستند.

9 و 13 میلی‌متر به ترتیب برابر $168/453 \pm 10/106$ ، $7/138 \pm 187/905$ و $6/934 \pm 208/385$ بود. همان‌طور که مشخص است فرآوری موجب افزایش قابلیت جویدن شده است. در همین راستا، Janaszek و Martynenko (2014) بیان کردند که افزایش شاخص قابلیت جویدن بافت نشان‌دهنده نیاز به انرژی بیشتر برای جویدن میوه خشک‌شده است؛ زیرا با سختی و قابلیت فنریت بافت رابطه مستقیم دارد. Chong و همکاران (2008) نیز قابلیت جویدن محصول خشک‌شده را بالاتر از محصول تازه مشاهده کردند.

قابلیت ارتجاعی بافت

جدول 14 مقایسه میانگین و انحراف معیار قابلیت ارتجاعی بافت را برای فاکتورهای مورد مطالعه نشان می‌دهد. میان سطوح مختلف دما، ضخامت و رطوبت همواره اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. جدول 15

جدول 14- مقایسه میانگین قابلیت ارتجاعی بافت برش سیب تحت تاثیر تیمارهای مورد آزمون

ضخامت (mm)	دما (°C)	رطوبت (%)		
		25	20	15
5	70	$0/148 \pm 0/014^{C\gamma}$	$0/189 \pm 0/011^{C\beta}$	$0/281 \pm 0/012^{C\alpha}$
	75	$0/155 \pm 0/016^{B\gamma}$	$0/190 \pm 0/017^{B\beta}$	$0/302 \pm 0/007^{B\alpha}$
	80	$0/206 \pm 0/012^{A\gamma}$	$0/239 \pm 0/023^{A\beta}$	$0/319 \pm 0/015^{A\alpha}$
9	70	$0/228 \pm 0/013^{C\gamma}$	$0/276 \pm 0/009^{C\beta}$	$0/338 \pm 0/011^{C\alpha}$
	75	$0/230 \pm 0/013^{B\gamma}$	$0/290 \pm 0/010^{B\beta}$	$0/394 \pm 0/022^{B\alpha}$
	80	$0/245 \pm 0/028^{A\gamma}$	$0/305 \pm 0/008^{A\beta}$	$0/397 \pm 0/017^{A\alpha}$
13	70	$0/253 \pm 0/018^{C\gamma}$	$0/349 \pm 0/003^{C\alpha\beta}$	$0/399 \pm 0/014^{C\alpha}$
	75	$0/231 \pm 0/014^{B\gamma}$	$0/358 \pm 0/015^{B\alpha\beta}$	$0/416 \pm 0/012^{B\alpha}$
	80	$0/244 \pm 0/008^{A\gamma}$	$0/367 \pm 0/016^{A\alpha\beta}$	$0/430 \pm 0/011^{A\alpha}$

* حروف لاتین بزرگ مقایسه بین دماهای آزمون و حروف لاتین کوچک مقایسه بین ضخامت برش‌ها است؛ حروف یونانی مقایسه بین درصد رطوبت را نشان می‌دهد ($P < 0/05$)؛ حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است، ($M \pm SD$).

جدول 15- تجزیه واریانس برای تاثیر فاکتورهای مورد آزمون روی قابلیت ارتجاعی بافت برش‌های سیب

معنی‌داری	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	مدل
0/000	1058/718	0/269	27	7/272	مدل
0/000	26/465	0/007	2	0/013	دما
0/000	342/962	0/087	2	0/174	ضخامت
0/000	577/223	0/147	2	0/294	رطوبت
0/006	4/014	0/001	4	0/004	دما × ضخامت
0/013	3/490	0/001	4	0/004	دما × رطوبت
0/000	15/790	0/004	4	0/016	ضخامت × رطوبت
0/508	0/919	0/000	8	0/002	دما × ضخامت × رطوبت
		0/000	54	0/014	خطا
			81	7/285	کل

ارزیابی حسی

جدول 16 جزئیات مقایسه سطوح مختلف دما، رطوبت و ضخامت برش‌های سیب را از نظر نمرات ارزیابی حسی بافت و پذیرش کلی نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است، به‌طور کلی دمای 70°C ، رطوبت 25 درصد بر حسب وزن مرطوب و ضخامت 5 میلی‌متر، در ارزیابی نمرات بالاتری را کسب کردند که هر سه شرایط سختی کمتری را در محصول موجب شدند (جدول 2). ضخامت برش 5 میلی‌متر به دلیل چروکیدگی کمتر مطلوبیت بافت و پذیرش کلی بالاتری نشان داد. در همین راستا، Nowak و Lewicki (2005) مشاهده کردند که شدت

زیاد تبخیر آب (دمای بالا یا ضخامت زیاد یا سطح رطوبت نهایی پایین) می‌تواند تنش چروکیدگی بیشتری در محصول ایجاد کند و در نتیجه محصول پذیرش کیفی کمتری خواهد داشت. براساس پژوهش Zhu و همکاران (2010) ضخامت برش اثر معنی‌داری روی مطلوبیت خصوصیات حسی محصول داشت و طی پرتودهی متناوب تغییر رنگ نامطلوب سطحی شدید مشاهده نشد. Chong و همکاران (2008) بیان کردند که سختی پارامتر مهمی طی خشک‌کردن است و جهت بررسی سختی سطحی² در میوه‌های خشک‌شده به کار می‌رود و میوه خشک‌شده نرم‌تر نشان‌دهنده کیفیت بالاتر است.

جدول 16- مقایسه میانگین نمرات ارزیابی حسی براساس سطوح مختلف فاکتورهای دما، رطوبت و ضخامت

فاکتور	سطح	بافت	پذیرش
دما ($^{\circ}\text{C}$)	70	8/18±0/787 ^A	8/1±0/637 ^A
	75	6/62±0/943 ^B	6/76±0/783 ^B
	80	5/49±1/104 ^C	5/78±0/909 ^C
(sig.)		0/000	0/000
رطوبت (%)	15	6/52±1/4 ^C	6/68±1/253 ^B
	20	6/78±1/482 ^B	6/91±1/233 ^A
	25	6/99±1/465 ^A	7/04±1/198 ^A
(sig.)		0/000	0/000
ضخامت (mm)	5	7/44±1/191 ^A	7/39±0/944 ^A
	9	6/82±1/259 ^B	6/84±1/151 ^B
	13	6/02±1/543 ^C	6/4±1/372 ^C
(sig.)		0/000	0/000

* حروف انگلیسی مقایسه بین سطوح هر فاکتور را نشان می‌دهد ($P < 0/05$). * حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است، (M±SD).

بر این اساس، در این پژوهش کیفیت مطلوب بافت از نظر سختی در دمای کمتر، ضخامت کمتر و رطوبت بیشتر یا شرایط شدت کم تبخیر مشاهده شد. سختی بافت برش سیب در این شرایط برابر با $695/177 \pm 7/685$ گرم بود. سایر پارامترهای بافتی دستگاهی محاسبه شده نیز می‌تواند جهت تعیین بافت مطلوب به کار گرفته شود و تغییرات پارامترهای پروفیل بافت برای دستیابی به بافت مطلوب از نظر هر تیمار در این تحقیق قابل ارزیابی است. بر این اساس، ارتباط

شاخص‌های تجزیه و تحلیل پروفیل بافت برش‌های سیب با افزایش دما یا افزایش ضخامت یا افزایش رطوبت به صورت جدول 17 تغییر نمود. پارامترهای بافت سیب خام تحت تاثیر حرارت به صورت جدول به 18 تغییر کرد. در واقع حرارت‌دهی سیب خام باعث کاهش کاهش در سختی و چسبندگی و افزایش در فنریت، انسجام، شاخص صمغی، قابلیت جویدن و قابلیت ارتجاعی گردید.

جدول 17- تغییرات نمادین شاخص‌های پروفیل بافتی برش‌های سیب با افزایش (↑) تیمارها

تیمار	سختی	چسبندگی	فنریت	انسجام	شاخص صمغی	قابلیت جویدن	قابلیت ارتجاعی
↑ دما	↑	↓	↑	↓	↑	↑	↑
↑ ضخامت	↑	↑	↓	↓	↑↓	↓	↑
↑ رطوبت	↓	↑	↓	↑	↓	↓	↓

* شرایط مطلوب ارزیابی حسی بافت: دمای کمتر، ضخامت کمتر، رطوبت بیشتر

جدول 18- تغییرات نمادین شاخص‌های پروفیل بافتی برش‌های سیب خام با افزایش (↑) حرارت‌دهی

تیمار	سختی	چسبندگی	فنریت	انسجام	شاخص صمغی	قابلیت جویدن	قابلیت ارتجاعی
↑ حرارت‌دهی طی خشک کردن	↓	↓	↑	↑	↑	↑	↑

نتیجه‌گیری

این پژوهش مزایای سنجش و تجزیه و تحلیل پروفیل بافتی برای برش‌های سیب را طی خشک کردن و آب‌زدایی مادون قرمز نشان داد. آزمون پروفیل بافتی تحت تاثیر حرارت‌دهی طی خشک کردن، دما، ضخامت و محتوی رطوبت می‌تواند انواع رفتار مکانیکی ویسکوالاستیک طی نرم شدن، الاستیک با سخت شدن، پلاستیک و شیشه‌ای در پایان خشک کردن را مشخص نماید. نتایج حاصل از آزمون پروفیل بافت می‌تواند در تعیین کمی مطلوبیت بافت با توجه به

هم‌بستگی آن‌ها با داده‌های ارزیابی حسی مفید باشد. شدت زیاد تبخیر آب (در شرایط: دمای بالا یا ضخامت زیاد یا سطح رطوبت نهایی پایین) طی خشک کردن می‌تواند موجب بروز تنش چروکیدگی بیشتری در بافت سیب گردد و در نتیجه محصول دارای پذیرش کیفی کمتری خواهد بود. در واقع دمای 70°C، رطوبت 25 درصد بر حسب وزن مرطوب و ضخامت 5 میلی‌متر تیمارهای مطلوب از نظر ارزیابی حسی بودند و مقدار شاخص‌های دستگاهی آزمون پروفیل بافت برای آن‌ها در این پژوهش مشخص گردید.

منابع

- Acevedo, N. C., Briones, V., Buera, P., & Aguilera, J. M. (2008). Microstructure affects the rate of chemical, physical and color changes during storage of dried apple discs. *Journal of Food Engineering*, 85(2), 222-231.
- Barrett, D. M., Beaulieu, J. C., & Shewfelt, R. (2010). Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(5), 369-389.
- Bourles, E., Mehinagic, E., Courthaudon, J., & Jourjon, F. (2009). Impact of vacuum cooking process on the texture degradation of selected apple cultivars. *Journal of Food Science*, 74(9).
- Chong, C. H., Figiel, A., Law, C. L., & Wojdyło, A. (2014). Combined drying of apple cubes by using of heat pump, vacuum-microwave, and intermittent techniques. *Food and Bioprocess Technology*, 7(4), 975-989.
- Chong, C. H., Law, C. L., Cloke, M., Abdullah, L. C., & Daud, W. R. W. (2008). Drying kinetics, texture, color, and determination of effective diffusivities during sun drying of Chempedak. *Drying Technology*, 26(10), 1286-1293.
- Cuccurullo, G., Giordano, L., Albanese, D., Cinquanta, L., & Di Matteo, M. (2012). Infrared thermography assisted control for apples microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 112(4), 319-325.
- Falade, K., & Aworh, O. (2004). Adsorption isotherms of osmo-oven dried African star apple (*Chrysophyllum albidum*) and African mango (*Irvingia gabonensis*) slices. *European Food Research and Technology*, 218(3), 278-283.
- Food and Agriculture Organization, Dried fruit, in: www.fao.org/3/a-au111e.pdf or <http://www.fao.org/3/V5030E/V5030E0j.html>
- Funebo, T., Ahmé, L. I. a., Kidman, S., Langton, M., & Skjöldebrand, C. (2000). Microwave heat treatment of apple before air dehydration—effects on physical properties and microstructure. *Journal of Food Engineering*, 46(3), 173-182.
- Khin, M. M., Zhou, W., & Yeo, S. Y. (2007). Mass transfer in the osmotic dehydration of coated apple cubes by using maltodextrin as the coating material and their textural properties. *Journal of food Engineering*, 81(3), 514-522.
- Kotwaliwale, N., Bakane, P., & Verma, A. (2007). Changes in textural and optical properties of oyster mushroom during hot air drying. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1207-1211.
- Krokida, M. K., Karathanos, V. T., & Maroulis, Z. B. (2000). Compression analysis of dehydrated agricultural products. *Drying technology*, 18(1-2), 395-408.
- Kupongsak, S., & Tan, J. (2006). Application of fuzzy set and neural network techniques in determining food process control set points. *Fuzzy Sets and Systems*, 157(9), 1169-1178.
- Liu, Y., Zhu, W., Luo, L., Li, X., & Yu, H. (2014). A mathematical model for vacuum far-infrared drying of potato slices. *Drying Technology*, 32(2), 180-189.
- López, J., Uribe, E., Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Gonzalez, E., & Di Scala, K. (2010). Effect of air temperature on drying kinetics, vitamin C, antioxidant activity, total phenolic content, non-enzymatic browning and firmness of blueberries variety Neil. *Food and Bioprocess Technology*, 3(5), 772-777.
- Loredo, A. B. G., Guerrero, S. N., Gomez, P. L., & Alzamora, S. M. (2013). Relationships between rheological properties, texture and structure of apple (*Granny Smith* var.) affected by blanching and/or osmotic dehydration. *Food and Bioprocess Technology*, 6(2), 475-488.
- Maity, T., Raju, P., & Bawa, A. (2012). Effect of freezing on textural kinetics in snacks during frying. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1), 155-165.

- Martynenko, A., & Janaszek, M. A. (2014). Texture changes during drying of apple slices. *Drying Technology*, 32(5), 567-577.
- Mayor, L., & Sereno, A. (2004). Modelling shrinkage during convective drying of food materials: a review. *Journal of Food Engineering*, 61(3), 373-386.
- Nishinari, K., Kohyama, K., Kumagai, H., Funami, T., & Bourne, M. C. (2013). Parameters of texture profile analysis. *Food Science and Technology Research*, 19(3), 519-521.
- Nowak, D., & Lewicki, P. P. (2005). Quality of infrared dried apple slices. *Drying Technology*, 23(4), 831-846.
- Perrot, N., Ioannou, I., Allais, I., Curt, C., Hossenlopp, J., & Trystram, G. (2006). Fuzzy concepts applied to food product quality control: A review. *Fuzzy Sets and Systems*, 157(9), 1145-1154.
- Toğrul, H. (2006). Suitable drying model for infrared drying of carrot. *Journal of Food Engineering*, 77(3), 610-619.
- Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Martínez-Monzó, J., García-Segovia, P., Di Scala, K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices. *Food Chemistry*, 132(1), 51-59.
- Velickova, E., Winkelhausen, E., & Kuzmanova, S. (2014). Physical and sensory properties of ready to eat apple chips produced by osmo-convective drying. *Journal of Food Science & Technology*, 51(12), 3691-3701.
- Zhu, Y., Pan, Z., McHugh, T. H., & Barrett, D. M. (2010). Processing and quality characteristics of apple slices processed under simultaneous infrared dry-blanching and dehydration with intermittent heating. *Journal of Food Engineering*, 97(1), 8-16.

Textural profile analysis (TPA) of dried apple slices using infrared radiation with intermittent heating method

H. Sabbaghi¹, A. M. Ziaifar^{2*}, M. Kashaninejad³

Received: 2018.04.10

Accepted: 2019.06.29

Introduction: Fruits and their products in the dried form are good sources of vitamins, energy and minerals. However, during the process of drying or dehydration there are changes in quality parameters in dried products. Texture is one of the most important quality attributes of fruits during drying, reflecting their mechanical and microstructural properties. Apple is perishable fruit. Drying of apple is very important because of High losses are experienced during the seasonal glut. A novel process in food industry is the simultaneous infrared dry blanching and dehydration operation (SIRDBD) with intermittent heating method (radiation at constant temperature) exerted on fruits and vegetables that is known to enhance the quality of the final product. In the food industry, end-products must achieve a compromise between several properties, including sensory, sanitary and technological properties. Prediction of changes in texture during drying could be helpful in a better process control and improvement in overall acceptability of a dried snack food. The change of the elastic or viscoelastic texture of the fresh apples to rigid, fragile and brittle in the apple chips were evaluated by instrumental and sensory methods. Many attempts have been made to describe the viscoelastic behavior of dehydrated fruits and vegetables. Maxwell's or compression models are limited to homogeneous, isotropic materials. In contrast, texture profile analysis (TPA) is more suitable for heterogeneous biological materials and shows a good correlation with organoleptic evaluation. Typical TPA parameters are including hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, gumminess, chewiness and resilience. In this research, for the first time, textural analysis of dried apple slices by infrared heating at different temperatures and different moisture levels was performed. Finally, the optimum texture and overall acceptance of the product are described according to the instrumental analysis.

Materials and methods: Apples (Golden Delicious variety) were purchased from a local market and kept in $0^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ and relative humidity ranging from 90% to 95%. Before every thermal processing, the apple specimens were picked up from the cold storage and then they were put into use after reaching the ambient temperature. The samples were skinned manually and then cut into slices with different thicknesses of 5mm, 9mm and 13mm, all 20mm in diameter. The sliced apples were immediately subjected to simultaneous blanching and infrared drying. The texture of dehydrated apple slices using infrared radiation at three surface temperatures of 70, 75 and 80 °C were studied. The product in three thicknesses was dried to achieve a moisture level of 15, 20 and 25% wet weight basis. Then, texture profile analysis (TPA) was carried out to 50% compression strain using texture analyzer. The sensory evaluation of dried slices was also considered for desire texture (Good mouth feels texture, lack of hard tissue, no shrinkage) and overall acceptance (The final acceptability of the product in terms of total sensory properties including color, texture, flavor and aroma) by 10 professional panelists. For statistical analysis, a completely randomized design (CRD) was used in a factorial form (3^3) and Duncan test with 95% confidence level.

Result & Discussion: The results showed that drying to studied moisture levels reduced the hardness and adhesiveness and increased springiness, cohesiveness, gumminess, chewiness and resilience in comparison with raw apple tissue. Hardness of samples dried at higher temperature was higher due to rapid removal of moisture which might have caused collapse of capillary voids inside the product. Due to shrinkage samples became denser and thus a larger fracture force was to be expected. As water content increases (i.e., higher RH) water plasticizes the cell walls and the material and product becomes softer and more pliable, thus hardness decreases. The increase of hardness could be because the rapid mass transfer that damaged the membrane and cell structure of the fruits during drying. Another important factor responsible for the increase of hardness of finish-dried samples is the low final moisture content when compared with other samples. High temperature drying method enables samples to reach low moisture content at relatively short duration and therefore the product with harder texture was obtained. The maximum value of adhesiveness was observed for fresh

1. Ph. D. Graduated of Food Processing Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources,

2. Associate Professor of Food Processing Engineering Department, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources.

3. Professor of Food Processing Engineering Department, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources.

(*- Corresponding Author Email: ziaifar@gmail.com)

apples, which could be attributed to the high moisture and sugar content. Adhesiveness decreased with moisture loss, indicating the availability of free water on the sample surface. A significant decrease in springiness following high-temperature drying could be attributed to the glass transition phenomenon and changes from elastic to plastic behavior. In the period of softening, cohesiveness increased with moisture loss. Hardening caused a decrease in cohesiveness depending on the drying temperature. Gumminess is the energy required to disintegrate a semisolid food to a state of readiness for swallowing. High values of gumminess revealed “firm” and “crisp” with a cell rupture mode of tissue failure and lowest values of gumminess could be classified as “soft”. At the end of drying and with apple hardening, chewiness increased to values equal or above initial chewiness, indicating that a larger amount of energy is needed to masticate dried apples. Resilience had increasing with moisture loss. By increasing the thickness of the slices, the cohesiveness and springiness decreased and hence chewiness significantly decreased. The overall acceptance and desire texture in dried samples was observed at lower water evaporation rate conditions (lower temperatures, lower thickness and higher moisture content). In these conditions, the hardness of apple slices tissue was equal to 695.177 ± 7.685 grams. During drying of the apple, textural behavior was varied from the viscoelastic (higher initial hardness, with cohesiveness, springiness and lower resilience) to elastic and then to plastic or glassy.

Keywords: Drying, Texture profile analysis, Apple, Infrared radiation, Sensory evaluation

بهینه‌سازی فرمول پودینگ طالبی با کمک جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا با شیر خشک و شکر به روش سطح پاسخ

الناز شفیعی¹ - محمد گلی^{2*}

تاریخ دریافت: 1397/10/30

تاریخ پذیرش: 1398/04/10

چکیده

دسرهای شیری محصولاتی بر پایه شیر هستند که به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا، از جایگاه ویژه‌ای در رژیم غذایی برخوردارند. فراوانی ترکیبات زیستی مهم در ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس از یک طرف و عوارض جانبی ناشی از مصرف ساکاراز از طرف دیگر، موجب شد تا در این پژوهش، از اسپیرولینا پلاتنسیس با سطح جایگزینی با شیر خشک (2- صفر درصد) و استویا با سطح جایگزینی با شکر (100- صفر درصد) جهت دستیابی به فرمول بهینه تولید پودینگ استفاده شد. بهینه‌سازی فرمولاسیون بر اساس پارامترهای آب اندازی، ویسکوزیته، سفتی و پیوستگی بافت توسط روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی با 6 نقطه مرکزی و دو تکرار ($\alpha=2$) در سایر نقاط صورت گرفت. نتایج نشان داد که برای روند تغییرات آب‌اندازی، مدل خطی پیشنهاد شد و اثر مستقل جایگزینی استویا با شکر، اثر متقابل جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا و اثر درجه دوم هر یک از متغیرهای مستقل، معنی‌دار ($P < 0/001$) بود. اثر مستقل هر یک از متغیرهای مستقل و اثر متقابل آن‌ها نیز بر ویسکوزیته معنی‌دار ($P < 0/001$) بود. جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا در فرمولاسیون پودینگ، تأثیر قابل توجهی بر سفتی و پیوستگی بافت نداشت. درحالی‌که اثر متقابل جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا بر سفتی و پیوستگی بافت نمونه‌های پودینگ معنی‌دار ($P < 0/001$) بود. فرمول بهینه پیشنهادی شامل بهینه 1 (2 درصد جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و 95 درصد جایگزینی استویا) و بهینه 2 (0/1 درصد جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و 50 درصد جایگزینی استویا) بود.

واژه‌های کلیدی: اسپیرولینا پلاتنسیس، استویا، پودینگ طالبی، بهینه‌سازی فرمولاسیون، ویسکوزیته، خواص بافتی

مقدمه

امروزه با افزایش آگاهی عموم مردم از تأثیر تغذیه مناسب بر سلامتی، توجه تولیدکنندگان مواد غذایی بر تولید محصولات فراسودمند با ارزش غذایی بالاتر متمرکز شده است (Louis et al., 2007). مصرف شیر و فرآورده‌های آن به‌عنوان یکی از شاخص‌های توسعه جوامع انسانی مطرح است و سطح سلامتی افراد جامعه همبستگی بالایی با مصرف فرآورده‌های لبنی دارد. در این میان، دسرهای لبنی بخش عمده‌ای از محصولات لبنی را به‌خود اختصاص داده و با توجه به اهمیت تغذیه‌ای آن‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند (مهرابی و همکاران، 1397). دسر شیری محصولی است که حاوی حداقل 50 درصد شیر تازه گاو یا شیر بازساخته و با ترکیبی است که با افزودنی‌های مجاز مانند انواع طعم‌دهنده‌ها،

شیرین‌کننده‌ها، قوام‌دهنده‌ها و پایدارکننده‌ها، پس از طی فرایند حرارتی نظیر پاستوریزاسیون و یا استریلیزاسیون تهیه می‌شود (Tarrega et al., 2007). در سال‌های اخیر، استفاده از ریز جلبک‌ها با توجه به دارا بودن خواص منحصر به فرد و به عنوان منابع مغذی و جایگزین با مواد غذایی رشد روز افزونی داشته است. در میان گونه‌های شناخته شده جلبک‌ها، اسپیرولینا پلاتنسیس³ یکی از ریز جلبک‌های خوراکی رایج و بدون عوارض جانبی می‌باشد (Batista et al., 2012). اسپیرولینا پلاتنسیس از جمله ریز جلبک‌های چندسلولی و رشته‌ای سبز- آبی است که منبع غنی از پروتئین، اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌ها، مواد معدنی و رنگدانه‌ها می‌باشد (Falquet, 2005). مستندات بسیاری دال بر ویژگی‌های سلامت بخشی اسپیرولینا پلاتنسیس در ارتباط با بسیاری از بیماری‌ها همچون فشار خون بالا، چربی خون بالا، دیابت، انواع سرطان‌ها و نقص سیستم ایمنی انسان (ایدز)، در پایگاه‌های مختلف علمی ارائه شده است (Bleay, 1993). با این حال، به دلیل ویژگی‌های ارگانولپتیکی نامطلوب اسپیرولینا پلاتنسیس، احتمالاً معرفی آن به

1 و 2- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

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

DOI: 10.22067/ifstrj.v16i2.78690

و ارزیابی حسی تیمارهای مختلف مشاهده، و نمونه حاوی 2 درصد استویا و 17 درصد مالتودکسترین به عنوان نمونه بهینه معرفی شد (نجفی و همکاران، 1395).

هدف از این پژوهش، بهینه سازی فرمولاسیون پودینگ طالبی به کمک اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا به عنوان جایگزین شیرخشک و شکر بود.

مواد و روش ها

در فرمولاسیون دسر شیری از شیر خشک بدون چربی، نشاسته ذرت اصلاح شده، شکر و کاراگینان استفاده شد. شیر خشک بدون چربی، نشاسته ذرت اصلاح شده، شکر و کاراگینان به ترتیب از شرکت آرین لبن نقش جهان، آردینه، نقش جهان و بهین گارد تهیه شد. پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس، استویا، ایزومالت (به عنوان حجم دهنده) و اسانس طالبی با نام تجاری جیوادان از شرکت سلامت گستران آرایان (فرامنش) فراهم گردید.

تهیه دسر شیری

فرمولاسیون پایه دسر شیری شامل آب (74/4%)، شیر خشک (12%)، نشاسته ذرت اصلاح شده (5/43%)، شکر (8%)، کاپاکاراگینان (0/01%) و نمک (0/1%) می باشد. به منظور تهیه دسر شیری ابتدا مواد پودری با هم ترکیب گردید. پس از فرایند حرارتی (دمای 90 درجه سانتی گراد به مدت 30 دقیقه)، مخلوط تا دمای 40 درجه سانتی گراد خنک و اسانس طالبی به آن اضافه شد و پس از 24 ساعت ماندن در دمای یخچال، دسر شیری آماده شد (Ares et al., 2009). از آنجایی که این محصول در طول مدت نگهداری دچار اشکالات فیزیکوشیمیایی از جمله آب اندازی می شود لذا به منظور رفع این اشکالات و بهینه سازی شرایط فرایند، متغیرهای مستقل A (درصد اسپیرولینا پلاتنسیس) و B (درصد استویا) در پنج سطح (جدول 1) انتخاب شدند. برای به دست آوردن نقطه بهینه، 22 آزمایش توسط نرم افزار Design Expert پیشنهاد گردید (جدول 2)، که در این جدول فاکتورها و سطوح اندازه گیری آنها نیز بیان شده است.

تنهایی به عنوان غذا، با عدم استقبال مصرف کنندگان روبرو خواهد شد، بنابراین یکی از راهکارهای کارآمد برای وارد کردن این گروه از مواد غذایی به سبد غذایی انسان، استفاده از آنها در فرمولاسیون محصولات غذایی شناخته شده می باشد (Alamri et al., 2014).

یکی از مواد مصرفی در تهیه دسرهای شیری، شیرین کننده ها هستند. شکر به عنوان یکی از اجزاء اصلی در تولید انواع دسرهای بر پایه پروتئین های شیر، دارای خواص عملکردی ویژه از جمله شیرین کنندگی، جلوگیری از کلوخه ای شدن در هنگام مخلوط کردن مواد فرمولاسیون و قابلیت جذب آب بالا می باشد (Alamri et al., 2014). با وجود تمام مزایایی که ساکارز به عنوان یک شیرین کننده طبیعی دارد اما بدلیل ایجاد بیماری هایی مانند فشار خون، قلبی - عروقی، فساد دندان، چاقی و افزایش سطح گلوکز خون (به ویژه برای افراد دیابتی) مضر است (شوریده، 1389). امروزه به عنوان جایگزین ساکارز از انواع شیرین کننده های غیرکالریک استفاده می شود که در مقادیر کم و بسیار کم، شیرینی بسیار زیادی ایجاد می کنند و عمدتاً مشابه با شیرینی ساکارز بوده اما جذب بدن نمی شوند (Obrien-Nabors, 2011). از این میان استویا با شیرینی بیشتر از ساکارز (400-300 برابر)، کالری کمتر و اندیس گلیسمی پایین تر، شیرین کننده گیاهی مناسبی برای جایگزین با ساکارز می باشد (Saulo, 2005).

شهبازی زاده و همکاران (1393)، اثر جایگزینی ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس به طور جزئی و یا کامل با تثبیت کننده ثعلب در بستنی را بررسی کردند. در پژوهش دیگر که توسط رسولی و همکاران (1396) در ارتباط با بهینه سازی فرمولاسیون بستنی سنتی ایرانی با اسپیرولینا پلاتنسیس به روش سطح پاسخ انجام گرفت، نتایج نشان داد که حضور این ریزجلبک در فرمولاسیون بستنی به طور معنی داری موجب افزایش ویسکوزیته و مقاومت به ذوب و کاهش اورران بستنی سنتی می شود. Barkallah و همکاران (2017) با غنی سازی ماست توسط ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس، ظرفیت نگهداری آب بهتر و آب اندازی کمتر نمونه های حاوی این ریزجلبک در طی 28 روز نگهداری در سرما را گزارش کردند. با بهینه سازی مافین کم کالری با استفاده از شیرین کننده طبیعی استویا و مالتودکسترین، تفاوت معنی داری در سفتی بافت، میزان نگهداری آب

جدول 1- نمایش متغیرهای مستقل فرایند و سطوح اندازه گیری آنها

متغیرهای مستقل	فاکتور	کد و سطوح مربوطه				
		+α		-α		
جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس با شیر خشک (%)	A	100	75	50	25	0
جایگزینی استویا با شکر (%)	B	2	1/5	1	0/5	0

جدول 2- آزمایشات ارائه شده توسط نرم افزار با استفاده از طرح RSM

استویا	اسپیرولینا پلاتنسیس	Run	استویا	اسپیرولینا پلاتنسیس	Run
50	1	12	0	1	1
50	2	13	0	1	2
50	1	14	25	0/5	3
50	1	15	25	0/5	4
50	2	16	25	1/5	5
75	0/5	17	25	1/5	6
75	0/5	18	50	1	7
75	1/5	19	50	0	8
75	1/5	20	50	0	9
100	1	21	50	1	10
100	1	22	50	1	11

آب‌اندازی (سینرسیس)

برای اندازه‌گیری میزان آب‌اندازی نمونه‌ها، 100 گرم از نمونه در داخل لوله سانتریفوژ توزین و سپس در سرعت 3500 دور بر دقیقه به مدت 30 دقیقه سانتریفوژ شد. میزان سرم جدا شده نسبت به مقدار وزن اولیه نمونه بر حسب درصد بیان‌کننده میزان آب‌اندازی محاسبه گردید (Verbeken et al., 2006).

ویسکوزیته مطلق

جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته، نمونه‌ها در سرعت برشی 2 دور بر دقیقه با دستگاه ویسکومتر چرخشی (RVB-1، چین) مورد آزمون قرار گرفت و ویسکوزیته مطلق قرائت گردید (Emmons et al., 1972).

ویژگی‌های بافتی

به‌منظور ارزیابی ویژگی‌های بافتی نمونه‌های پودینگ طالبی، از دستگاه سنجش بافت بروکفیلد مجهز به پروب استوانه‌ای استفاده شد. قطر و سرعت پروب به ترتیب 40 میلی‌متر و 0/5 میلی‌متر بر ثانیه بود (Alamri et al., 2014).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

با توجه به درصدهای به‌دست آمده از آزمون‌های تولید اولیه، حد بالا و پایین متغیرها به دست آمدند. سپس با استفاده از نرم‌افزار Design-Expert نسخه 9 روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی با میزان α برابر 2 و با 6 نقطه مرکزی برای آن انتخاب شد. نتایج حاصل از آزمون‌های فیزیکی و بافتی پودینگ و آنالیز آماری شامل اثر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس با شیر خشک و جایگزینی استویا با شکر بر ویژگی‌های دسر تولید شده و توجه به این اثرات در این

بخش بیان شده است. اطلاعات ارائه شده در این بخش کمک می‌کند تا تأثیر میزان ماده اولیه را بر ویژگی‌های دسرهای تولید شده مورد بررسی و تحلیل قرار داده تا بهترین روش و شرایط برای تولید پودینگ به‌دست آید. جست و جوی شرایط عملیاتی بهینه برای دستیابی به بهترین پاسخ‌ها با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی انجام شد. در این تکنیک فضای پاسخ با استفاده از مدل‌های ایجاد شده و به‌منظور یافتن بهترین شرایطی که اهداف بهینه‌سازی مورد نظر را برآورده کند، جست و جو شد. پس از آنالیز داده‌ها توسط نرم افزار، مدلی پیشنهاد شد که دارای انحراف استاندارد و مجموع مربعات باقی‌مانده برآورد شده کم و ضریب همبستگی بالا باشد.

نتایج و بحث

به‌منظور به‌دست آوردن مدل تجربی برای پیش‌بینی متغیرهای پاسخ (آب‌اندازی، ویسکوزیته، سفتی و پیوستگی بافت) ابتدا رابطه‌های چندجمله‌ای شامل خطی، دو فاکتوریل (تعاملی)، درجه دو و درجه سه بر داده‌های به‌دست آمده از این پاسخ برازش داده شدند و سپس این مدل‌ها مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. لازم به ذکر است از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون عدم برازش آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده باشد. نتایج نشان داد مدل مناسب برای پیشگویی تغییرات آب‌اندازی و ویسکوزیته در اثر متغیرهای مورد بررسی (جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس با شیر خشک و جایگزینی استویا با شکر) به‌ترتیب، مدل خطی درجه سه و درجه دو با ضریب تبیین ($R^2 > 0/90$) می‌باشد. بهترین مدل برای بیان رابطه سفتی و پیوستگی بافت با متغیرهای مستقل نیز به‌ترتیب، مدل خطی درجه سه و درجه دو با ضریب تبیین ($R^2 > 0/90$) می‌باشد. نتایج

مربوط به تجزیه واریانس برای متغیرهای پاسخ در جدول 3 نشان داده شده است.

جدول 3- نتایج تجزیه واریانس اثر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا بر متغیرهای پاسخ (آب‌اندازی، ویسکوزیته، سفتی و پیوستگی بافت)

منبع تغییرات	آب‌اندازی (%)			ویسکوزیته (cP)			سفتی (N)			انسجام و پیوستگی		
	Prob>F	SS	DF	Prob>F	SS	DF	Prob>F	SS	DF	Prob>F	SS	DF
مدل	<0/0001***	5/81×10 ⁸	6	<0/0001***	2/14 ×10 ⁻³	5	<0/0001***	19/41	5	<0/0001***	0/2	3
A	—	—	—	<0/0001***	6/51×10 ⁻⁴	1	—	—	—	—	—	—
B	0/0447*	2/15×10 ⁶	1	<0/0001***	1/64×10 ⁻⁴	1	—	—	—	—	—	—
AB	<0/0001***	7/31×10 ⁷	1	<0/0001***	2/29×10 ⁻⁴	1	0/0257*	0/91	1	0/005**	0/032	1
A ²	<0/0001***	3/40×10 ⁸	1	0/0463*	1/58×10 ⁻⁵	1	<0/0001***	6/83	1	<0/0001***	0/14	1
B ²	<0/0001***	2/63×10 ⁸	1	<0/0001***	8/15×10 ⁻⁴	1	0/0679 ^{ns}	0/58	1	<0/0001***	0/084	1
A ² B	0/007**	4/47×10 ⁶	1	—	—	—	<0/0001***	7/45	1	—	—	—
AB ²	0/0947 ^{ns}	1/42×10 ⁶	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A ³	—	—	—	—	—	—	<0/0001***	4/14	1	—	—	—
باقی مانده	—	5/67×10 ⁶	13	—	4/62×10 ⁻⁶	14	—	2/41	16	—	0/056	18
عدم برازش	0/3942 ^{ns}	3/47×10 ⁵	1	0/8501 ^{ns}	1/23×10 ⁻⁶	2	0/3812 ^{ns}	0/49	3	0/3351 ^{ns}	0/018	5
خطای کل	—	5/33×10 ⁶	12	—	4/50×10 ⁻⁵	12	—	1/92	13	—	0/038	13
کل	—	5/58×10 ⁸	19	—	2/19×10 ⁻³	19	—	21/83	21	—	0/25	21

خطوط تیره در جدول نشان دهنده بی تأثیر بودن متغیر مربوطه در پاسخ‌های اندازه‌گیری شده است، ***: اختلاف معنی‌دار در سطح 0/1 درصد، **: اختلاف معنی‌دار در سطح 1 درصد، *: اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد، ^{ns}: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

آب‌اندازی (سینرسیس)

آب‌اندازی یکی از فاکتورهای کیفی بسیار مهم در ارزیابی پایداری فرآورده‌های لبنی طی نگهداری است که چالش مهمی به حساب می‌آید. سینرسیس معمولاً به دلیل افزایش اتصالات مولکولی بین زنجیره‌ها و خروج آب از ساختار به‌وجود می‌آید. با توجه به نتایج (جدول 3)، اثر مستقل جایگزینی استویا با شکر، اثر متقابل جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا و اثر مجذور هر یک از متغیرهای مستقل بر فاکتور آب‌اندازی معنی‌دار بود ($P < 0/05$ و یا $P < 0/001$). همان‌طور که در شکل 1، مشاهده می‌شود، میزان سینرسیس نمونه‌ها در سطوح بالاتر جایگزینی استویا، با کاهش درصد جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس کاهش یافت و در سطوح پایین‌تر جایگزینی استویا، با کاهش درصد جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس میزان آب‌اندازی به‌طور محسوسی افزایش یافت. ظرفیت نگهداری آب با توانایی پروتئین‌ها، چربی‌ها و فیبر رژیمی برای حفظ و نگهداری آب درون ساختار محصول مرتبط است. از آنجایی که اسپیرولینا پلاتنسیس دارای مقادیر بالای پروتئین، فیبر رژیمی و چربی است، حضور آن در فرمولاسیون انواع دسرهای منجمد تأثیر به‌سزایی در کاهش آب‌اندازی محصول دارد (Barkallah et al., 2017). در این راستا، محمدی‌الستی و همکاران (1395) در گزارش کردند افزودن

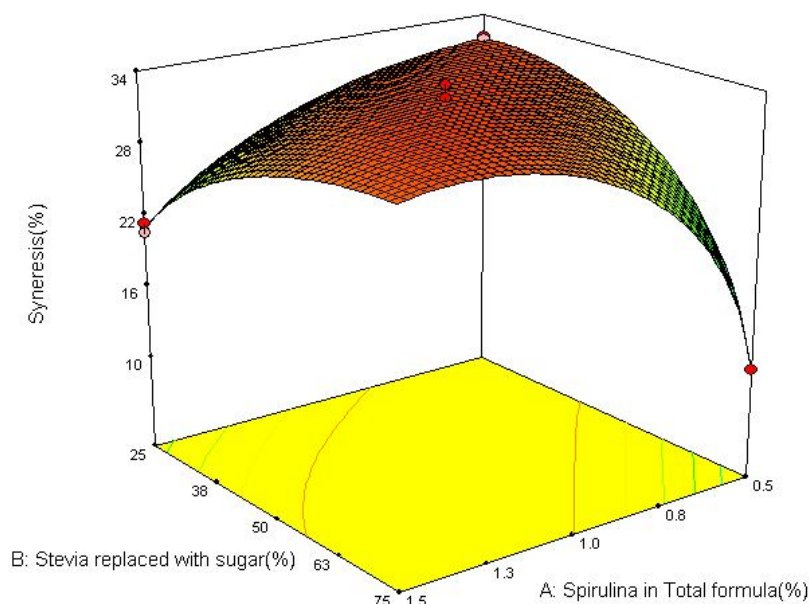
اسپیرولینا پلاتنسیس سبب کاهش میزان آب‌اندازی ماست شده است و با افزایش غلظت اسپیرولینا پلاتنسیس، کاهش آب‌اندازی در نمونه‌های ماست چشم‌گیرتر بوده است. میزان آب‌اندازی نمونه‌ها در سطوح بالاتر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس، با کاهش درصد جایگزینی استویا کاهش یافت، و در سطوح پایین‌تر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس، با کاهش درصد جایگزینی استویا میزان سینرسیس نمونه‌ها افزایش یافت (شکل 1). استویا دارای ظرفیت نگهداری آب معادل 4/7 میلی‌لیتر بر گرم است و این ظرفیت نگهداری آب بالای استویا ناشی از مقادیر بالای پروتئین در آن می‌باشد (میانی سریزدی و همکاران، 1395). بنابراین استویا به‌واسطه افزایش ماده خشک نمونه‌های پودینگ در اثر وجود مقادیر بالای پروتئین و پلی‌ساکارید در آن، در کاهش آب‌اندازی محصول تأثیرگذار بود. Amerinasab و همکاران (2015) نتایج مشابهی را گزارش نموده و قند خرما را عامل مؤثر در کاهش آب‌اندازی ماست معرفی نمودند. باید متذکر شد که حذف کامل ساکارز از نمونه‌های پودینگ و جایگزینی آن با استویا، تأثیر منفی بر آب‌اندازی آن‌ها داشت. در واقع وقتی ساکارز در سطوح بالا و یا به‌طور کامل از فرمولاسیون نمونه حذف شود و به‌عنوان جایگزین آن از استویا و یا هر نوع شیرین‌کننده‌ای استفاده گردد، جهت کاهش آب‌اندازی

حاضر از صمغ کاپاکاراگینان استفاده شد.

محصول باید از یک ماده که بتواند آب آزاد را در خود به دام بیندازد و ظرفیت نگهداری آب را در محصول بالا ببرد استفاده شود، در پژوهش

Design-Expert® Software
Original Scale
(Syneresis(%))*2.72
33.7393
10.5625

X1 = A: Spirulina in Total formula(%)
X2 = B: Stevia replaced with sugar(%)



شکل 1- نمودار سطح پاسخ تأثیر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس با شیر خشک و جایگزینی استویا با شکر بر میزان آب‌اندازی پودینگ طالبی.

ویسکوزیته

مطابق با جدول 3، اثر مستقل جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس، اثر مستقل جایگزینی استویا، اثر متقابل جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا، اثر مجذور جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و اثر مجذور جایگزینی استویا بر میزان ویسکوزیته معنی‌دار بود ($P < 0/05$) و یا ($P < 0/001$). میزان ویسکوزیته در سطوح پایین‌تر جایگزینی استویا، با کاهش درصد جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس تا حدودی ثابت و پس از آن افزایش یافت؛ در حالی که، در سطوح بالاتر جایگزینی استویا، کاهش درصد جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس تأثیر معنی‌داری بر ویسکوزیته نداشت (شکل 2). به‌طور کلی، حضور اسپیرولینا پلاتنسیس در فرمولاسیون پودینگ، موجب افزایش ویسکوزیته آن گردید که علت آن می‌تواند به‌دلیل ساختار پروتئینی اسپیرولینا پلاتنسیس و ایجاد تعاملات بین سلولی باشد. اسپیرولینا پلاتنسیس با قابلیت جذب آب بالا موجب کم شدن تحرک آب می‌شود (اسلامی مشکانی و همکاران، 1393). همچنین وجود فیبر و ترکیبات آب‌دوست دارای گروه هیدروکسیل در ساختار این ریزجلبک، تأثیر به‌سزایی بر افزایش ویسکوزیته محصول می‌گذارد (محمدی

الستی و همکاران، 1395). شایان ذکر است که اسپیرولینا پلاتنسیس دارای ظرفیت نگهداری آب 1/45 گرم آب در هر گرم پروتئین است. ظرفیت اتصال آب کارئین حدود 2/5 گرم آب در ازای هر گرم پروتئین است. از این‌رو، ظرفیت نگهداری آب در اسپیرولینا پلاتنسیس کمتر از جزء کارئینی شیر خشک است و در نتیجه افزایش سطح جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس با شیر خشک می‌تواند موجب کاهش ویسکوزیته شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اسپیرولینا پلاتنسیس تا حدی و نه به‌طور کامل می‌تواند جایگزین شیر خشک گردد (شه‌بازی‌زاده و همکاران، 1393). در سطوح پایین‌تر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس، با کاهش درصد جایگزینی استویا، میزان ویسکوزیته تا حدودی ثابت و پس از آن افزایش یافت، و در سطوح بالاتر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس، با کاهش درصد جایگزینی استویا تغییرات معنی‌داری در میزان ویسکوزیته مشاهده نشد (شکل 2). با توجه به نتایج به‌دست آمده و پژوهش‌های سایر محققین، ویسکوزیته با تغییر در میزان مواد جامد محصول به‌ویژه تغییر در میزان ساکارز، تغییر می‌یابد. قندهای دی‌ساکاریدی مانند ساکارز به دلیل ویژگی آبدوستی که دارند و همچنین توانایی ایجاد پیوند

شکلات داشتند، دریافتند که نوع شیرین کننده تأثیر معنی داری بر ویسکوزیته نمونه های شکلات داشته، و ویسکوزیته نمونه های حاوی استویا و توماتین به طور معنی داری بالاتر از نمونه های حاوی ساکارز بوده است که با یافته های ما در این پژوهش مطابقت نداشت. نتایج مشابهی توسط غیبی و همکاران (1396)، نشان داد که با افزایش سطح جایگزینی استویا با ساکارز در فرمول بستنی، ویسکوزیته مخلوط بستنی کاهش یافت.

هیدروژنی با مولکول های آب، ویسکوزیته بالاتری در محیط ایجاد می کنند. به علاوه، اندازه مولکول هم عامل مؤثری در ایجاد پیوند هیدروژنی با آب است، که ساکارز با وزن مولکولی کم و تمایل به جذب آب بالا باعث افزایش ویسکوزیته محصول می گردد (Saniah *et al.*, 2012). Philip Aidoo و همکاران (2014) در پژوهشی که بر فرمولاسیون شکلات بدون قند با ترکیب جایگزین کننده های ساکارز متفاوت و بررسی ویژگی های رئولوژیکی و کیفی نمونه های

Design-Expert® Software

Original Scale

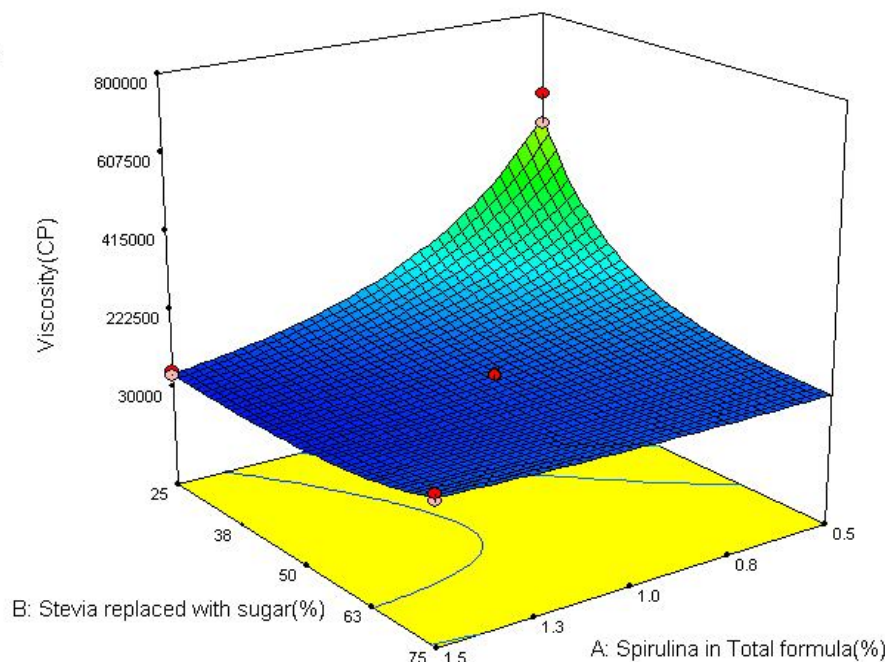
(Viscosity(CP))*0.01

792360

36830

X1 = A: Spirulina in Total formula(%)

X2 = B: Stevia replaced with sugar(%)



شکل 2- نمودار سطح پاسخ تأثیر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس با شیر خشک و جایگزینی استویا با شکر بر میزان ویسکوزیته.

موجب عدم اتصال و به هم پیوستگی شبکه و نهایتاً ایجاد ساختار نرم تر شوند. در واقع، مولکول های پروتئین اسپیرولینا پلاتنسیس با داشتن خاصیت هیدروفیلیک، با سایر مولکول ها برای اتصال با مولکول های آب رقابت می کنند و این امر منجر به تشکیل ساختار ژلی ضعیف تر و بی ثبات تر می شود (Shahbazizadeh *et al.*, 2015). از طرفی، سفتی بافت تا حد زیادی وابسته به ماده خشک، میزان و نوع پروتئین نمونه است. میزان بالای پروتئین سبب ایجاد اتصالات مقاطع در شبکه ژل و در نهایت ساختار سفت تر و متراکم تر می گردد. اما باید به این نکته اشاره داشت که مقدار چربی نمونه نیز نقش مهمی در بافت محصول ایفا می کند. از آنجایی که اسپیرولینا پلاتنسیس علاوه بر پروتئین، دارای مقادیر قابل ملاحظه چربی نیز

سفتی بافت

نتایج جدول 3، نشان می دهد که مدل آماری ارائه شده برای پیش بینی اثر متغیرهای آزمایش بر سفتی بافت مناسب می باشد. اثر متقابل متغیرها و اثر درجه دوم جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس بر پاسخ آزمایش معنی دار بود ($P < 0/05$ و یا $P < 0/001$). نمودار سطح پاسخ (شکل 3)، نشان داد که در سطوح پایین تر جایگزینی استویا، با افزایش درصد جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس میزان سختی نمونه ها ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت، در حالی که در سطوح بالاتر جایگزینی استویا، با افزایش درصد جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس میزان سختی نمونه ها ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت. برخی از محققان اشاره کردند که ذرات بزرگ اسپیرولینا پلاتنسیس می تواند

سطوح بالاتر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس، با افزایش درصد جایگزینی استویا سختی نمونه‌ها با شیب کمتر افزایش یافت (شکل 3). احتمالاً با افزایش سطوح جایگزینی استویا در فرمولاسیون پودینگ، میزان ماده خشک مخلوط کاهش می‌یابد. در واقع، آب جایگزین ساکارز در مخلوط شده و در طول فرایند انجماد در اثر افت دمای نقطه انجماد، حجم فاز یخی افزایش می‌یابد. از طرفی، ساکارز با افزایش ویسکوزیته مخلوط و با محدود کردن انتقال جرم از مهاجرت مولکول‌های آب به سطح کریستال‌های یخ جلوگیری کرده و سرعت رشد کریستال‌های یخ را کاهش می‌دهد. بنابراین، با کاهش مقدار ساکارز در اثر افزایش سطوح جایگزینی استویا، کریستال‌های یخ بیشتری در طول انجماد رشد می‌کنند و حجم فاز یخی افزایش و در نتیجه سفتی بافت افزایش می‌یابد (غیبی و همکاران، 1396). نتایج مطالعه Philip Aidoo و همکاران (2014) نشان داد که استفاده از استویا و توماتین به جای سوکرز در فرمولاسیون شکلات، سبب نرم‌تر شدن بافت شکلات شد. در حالی که جایگزینی سوکرز با اینولین در شکلات موجب سخت‌تر شدن بافت آن گردید.

می‌باشد، مداخله مولکول‌های چربی این ریز جلبک می‌تواند در تشکیل شبکه ژلی ضعیف‌تر و ایجاد بافت نرم در محصول مؤثر باشد (Paseephol et al., 2008). Malik (2011) گزارش کرد که با افزایش سطوح جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس (به‌ویژه در سطوح جایگزینی بالاتر از 50 درصد) با تثبیت کننده‌ها در مخلوط بستنی، سختی بافت بستنی کاهش معنی‌داری داشت. این محقق علت این پدیده را به ظرفیت نگهداری آب بالای اسپیرولینا پلاتنسیس به‌واسطه ترکیب و مقدار آمینواسیدهای موجود در آن نسبت داد. Barkallah و همکاران (2017) نیز در بررسی‌های خود با مقایسه پارامترهای بافتی (استحکام و انسجام) نمونه‌های ماست حاوی اسپیرولینا پلاتنسیس و گروه کنترل، به این نتیجه دست یافتند که گروه کنترل بیشترین استحکام بافت را داشت و تا حدی مشابه به نمونه حاوی 0/25 درصد اسپیرولینا پلاتنسیس بود و حضور اسپیرولینا پلاتنسیس در نمونه‌ها تأثیر چندانی بر انسجام آن‌ها نداشت.

در سطوح پایین‌تر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس، میزان سختی نمونه‌ها با افزایش درصد جایگزینی استویا افزایش خطی داشت، و در

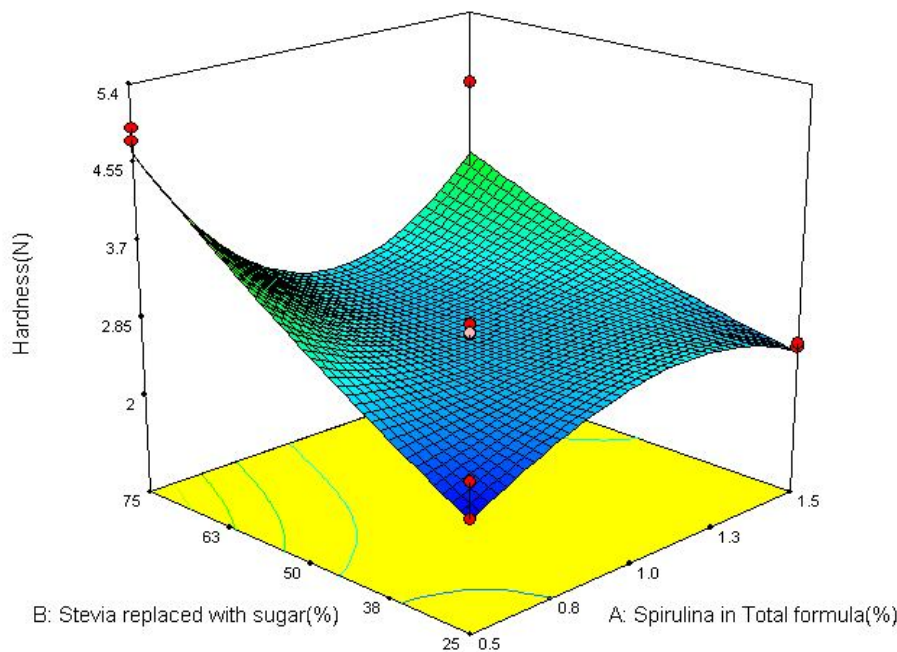
Design-Expert® Software

Hardness(N)



X1 = A: Spirulina in Total formula(%)

X2 = B: Stevia replaced with sugar(%)



شکل 3- نمودار سطح پاسخ تأثیر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس با شیر خشک و جایگزینی استویا با شکر بر سفتی بافت.

($P < 0/001$ و یا $P < 0/05$). همان‌طور که در نمودار سطح پاسخ (شکل 4)، مشاهده می‌شود، در سطوح پایین‌تر جایگزینی استویا، با افزایش درصد جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس انسجام و پیوستگی

انسجام و پیوستگی بافت

طبق نتایج (جدول 3)، اثر متقابل متغیرها و اثر درجه دوم هر یک از متغیرهای مستقل بر روی انسجام و پیوستگی بافت معنی‌دار بود

پلاتنسیس، افزایش انسجام بافت نمونه‌ها با افزایش درصد جایگزینی استویا مشهود بود؛ و در سطوح بالاتر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس، با افزایش درصد جایگزینی استویا انسجام بافت نمونه‌ها کاهش یافت (شکل 4). در انواع سیستم‌های بر پایه ژل، با افزایش غلظت ساکارز، مقاومت ژل در برابر فشار افزایش می‌یابد. علت این امر می‌تواند افزایش ماده خشک کل، کاهش آب آزاد، افزایش قدرت یونی محیط و نیز افزایش اثر متقابل صمغ/ پروتئین و ساکارز باشد (Costell et al., 2000). از طرفی افزایش بیش از حد ساکارز در محیط، باعث سست شدن ماتریکس ژل، افزایش کرنش و کاهش انسجام ژل می‌شود (Saha et al., 2010). بنابراین، جایگزینی ساکارز با استویا تا حدودی می‌تواند بر ویژگی‌های بافتی و رئولوژیکی پودینگ اثر مثبت داشته باشد.

نمونه‌ها افزایش یافت، در حالی که در سطوح بالاتر جایگزینی استویا، با افزایش درصد جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس انسجام بافت نمونه‌ها کاهش یافت. به‌طور کلی، جایگزینی شیر خشک با اسپیرولینا پلاتنسیس تا حدودی می‌تواند بر ویژگی‌های بافتی پودینگ (سفتی و انسجام و پیوستگی) تأثیر مثبت داشته باشد. اسپیرولینا پلاتنسیس با داشتن گروه‌های قطبی، آب موجود در فرمولاسیون را در ساختار خود به دام انداخته و در نهایت منجر به افزایش انسجام بافت محصول می‌گردد (Sandoval-Castilla, 2004). همچنین، این احتمال می‌رود که بخش پروتئینی اسپیرولینا پلاتنسیس از طریق پیوند هیدروژنی و تعامل‌های یون-دی پل و دی پل-دی پل با مولکول‌های آب موجود در نمونه اتصال برقرار کرده و از این طریق موجب کاهش فعالیت آب نمونه و افزایش انسجام می‌شود (Chronakis, 2001). در سطوح پایین‌تر جایگزینی اسپیرولینا

Design-Expert® Software

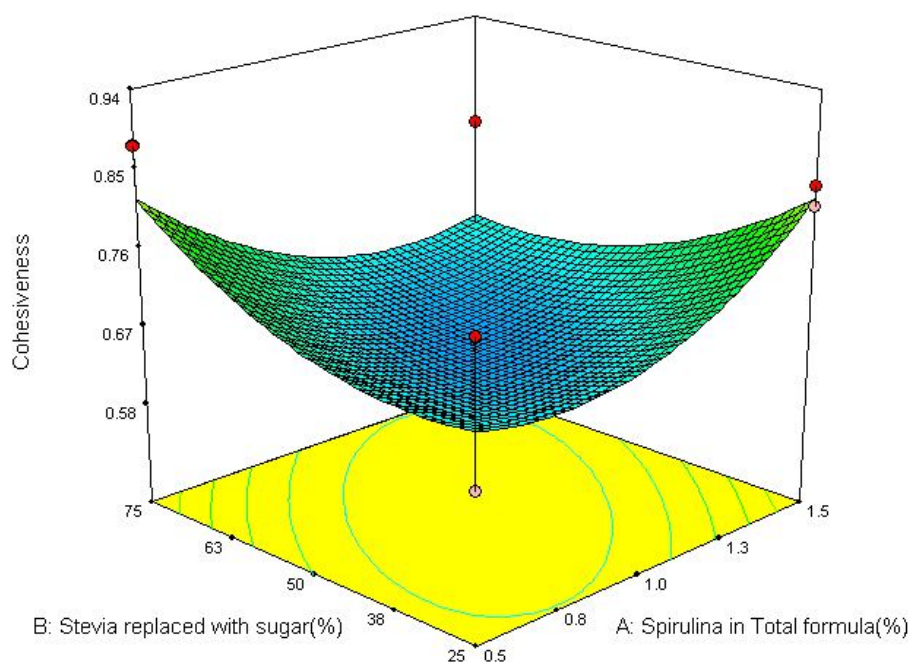
Cohesiveness

0.94

0.591

X1 = A: Spirulina in Total formula(%)

X2 = B: Stevia replaced with sugar(%)



شکل 4- نمودار سطح پاسخ تأثیر جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس با شیر خشک و جایگزینی استویا با شکر بر انسجام بافت

مقادیر به‌دست آمده برای فرایند بهینه‌سازی و هدف آن مشخص شده است. در نهایت نتیجه به‌دست آمده برای بهینه‌سازی به‌صورت جدول 5، بود که در زیر نشان داده شده است.

بهینه‌یابی

شرایط بهینه برای تولید پودینگ طالبی به کمک جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس با شیر خشک و جایگزینی استویا با شکر با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی انجام شد. در جدول 4، دامنه

جدول 4- مقادیر مورد استفاده برای بهینه‌سازی و ویژگی و یا هدف آن			
متغیر مستقل و پاسخ	حد پایین	حد بالا	هدف
جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس با شیر خشک (%)	0	2	is in range
جایگزینی استویا با شکر (%)	0	100	is in range
آب‌اندازی (%)	10/56	33/73	Maximize
ویسکوزیته (cP)	36830	792360	Maximize
سفتی بافت (N)	2/07	5/29	Maximize
انسجام و پیوستگی بافت	0/59	0/94	Maximize

جدول 5- ویژگی‌های فرمول بهینه‌پودینگ طالبی (واقعی) و اعتبارسنجی داده‌ها (پیش‌بینی شده)			
متغیرهای پاسخ		بهینه 1	بهینه 2
		اسپیرولینا پلاتنسیس 2 درصد و استویا 95 درصد	اسپیرولینا پلاتنسیس 0/1 درصد و استویا 50 درصد
		واقعی	پیش‌بینی شده
آب‌اندازی (%)	22/24	23/73	17
ویسکوزیته (cP)	78706/67	792374	269213
سفتی بافت (N)	2/36	9/52	5/03
انسجام و پیوستگی بافت	3/47	0/81	0/86

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده حاکی از آن بودند که مدل‌های ارائه شده با روش سطح پاسخ، کارایی مناسبی برای پیش‌بینی و بهینه‌یابی پارامترهای مورد ارزیابی داشتند. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح جایگزینی اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا در نمونه‌های پودینگ، آب

اندازی افزایش و ویسکوزیته و سفتی بافت کاهش یافت. به‌طور کلی، می‌توان ادعا کرد که از اسپیرولینا پلاتنسیس و استویا در سطوح پایین جایگزینی، در تولید یک دسر شیری جدید با بافت مطلوب می‌توان استفاده کرد.

منابع

- اسلامی مشکاتی، ع.، فدایی نوغانی، و.، خسروی دارانی، ک. و مزینانی، ص.، 1393، بررسی اثر افزودن پودر ریز جلبک بر برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ پروبیوتیک حاوی پودر نعنای، فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، 2، 59-70.
- رسولی، ف.، برنجی، ش. و شهاب لواسانی، ع.، 1396، بهینه‌سازی فرمولاسیون بستنی سنتی ایرانی حاوی ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس با استفاده از روش سطح پاسخ، علوم غذایی و تغذیه، 14، 15-28.
- شوریده، م.، تسلیمی، ا.، عزیزی، م.ج.، محمدی‌فر، م.ا. و مشایخ، م.، 1389، تأثیر کاربرد D- تاگاتوز، اینولین و استویا به‌عنوان جایگزین ساکارز بر بعضی ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، رئولوژیکی و حسی شکلات تیره، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، 5، 29-38.
- شهبازی‌زاده، س.، مقدم، م.، احمدیان، ف. و رضانی‌پور، م.، 1393، بررسی امکان استفاده از پودر اسپیرولینا در تولید بستنی، دومین همایش کشوری سلامت شیر از تولید تا مصرف و اهمیت تغذیه، تهران، معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی ایران، 3-4 اسفند.
- غیبی، ن.، رفتی امیری، ز. و کسائی، م.ر.، 1396، بررسی اثر استویا و اینولین بر روی ساختار، خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی رژیمی، فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، 14، 1-14.
- محمدی‌الستی، ف.، فدائی نوغانی، و. و خسروی دارانی، ک.، 1395، تأثیر غلظت‌های مختلف جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی ماست اسفناج پروبیوتیک، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، 26، 127-143.
- مهرابی، ز. و گلی، م.، 1397، تولید دسر شیری بر پایه‌ی فرمولاسیون عسل خرما، نشاسته ذرت و ژلاتین با کمک روش سطح پاسخ (RSM)، فصلنامه علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، 13، 3، 115-125.

میانی سریزدی، س.، اعلمی، م.، امینی فر، م.، غفارپور، م.، دستمالچی، ف.، مقصودلو، ی. و محمدی، م.، 1395، بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی، بافتی و حسی دسر لبنی فرا سودمند دارای مالت جو بدون پوشینه، مهندسی بیوسیستم/ایران، 47، 3، 501-509.

نجفی، س. و صالحی فر، م.، 1395، بهینه سازی تولید مافین کم کالری با استفاده از شیرین کننده طبیعی استویا و مالتودکسترین، نشریه پژوهش های صنایع غذایی، 26، 4، 715-724.

- Alamri, M.S., Mohamed, A.A. & Hussain, S., 2014, High-fibr date pits pudding: formulation, processing and textural properties, *European Food Research and Technology*, 239, 736-755.
- Amerinasab, A., Labbafi, M., Mouavi, M. & Khdayian, F., 2015, Development of novel yoghurt based on date liquid suger: physicochemical and sensory characterization, *LWT-Food Science and Technology*, 52, 6583-6590.
- Ares, G., Baixauli, R., Sanz, T., Varela, P. & Salvador, A., 2009, new functional fibre in milk pudding: effect on sensory properties and consumers' acceptability, *LWT-Food Science and Technology*, 42, 710-716.
- Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrich, B., Mechichi, T., Ayadi, M.A., Fendri, I., Attia, H. & Abdelkafi, S., 2017, Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage, *LWT-Food Science and Technology*, 84, 323-330.
- Batista, A.P., Ristiana Nunes, M.C., Fradinho, P., Gouveia, L., Sabel Sousa, I., Raymundo, A. & Franco, J.M., 2012, Novel foods with microalgal ingredients- Effect of gel setting conditions on the linear viscoelasticity of *Spirulina* and *Haematococcus* gels, *Journal of Food Engineering*, 110, 182-189.
- Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K. & Shimamatsu, H., 1993, Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*, *Journal of Applied Phycology*, 5, 235-241.
- Chronakis, I.S., 2001, Gelation of edible blue-green algae protein isolates (*Spirulina platensis*): Thermal transitions, rheological properties and molecular forces involved, *Bioresource Technology*, 77, 19-24.
- Costell, E., Peyrolon, M. & Duran, L., 2000, Influence of texture and type of hydrocolloid on perception of basic tastes in carrageenan and gellan gels, *Food Science and Technology International*, 6(6), 495-499.
- Emmons, D., Beckett, D. & Larmond, E., 1972, Physical properties and storage stability of milk based puddings made with various starches and stabilizers, *Canadian Institute of food science and technology Journal*, 5(2), 72-76.
- Falquet, J., 2005, The nutritional aspects of *Spirulina*, *Antenna Technologies*, 1-5.
- Louis, J.L., Balestrieri, M.L. & Napoli, C., 2007, Nutrition, physical activity and cardiovascular disease, *Cardiovascular Research*, 73, 326-340.
- Malik, P., 2011, Utilization of spirulina powder for enrichment of ice cream and yoghurt. MSc thesis, Bidar University, Bidar, Karnataka.
- O'Brien-Nabors, L., 2011, Alternative Sweeteners, Marcel Dekker, New York (USA), 587 p.
- Paseephol, T., Small, D.M. & Sherkt, F., 2008, Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition, *Journal of Texture Studies*, 39(6), 617-634.
- Philip Aidoo, R., Ohene Afoakwa, E. & Dewettinck, K., 2014, Rheological properties, melting behaviours and physical quality characteristics of sugar-free chocolates processed using inulin/ polydextrose bulking mixtures sweetened with stevia and thaumatin extracts, *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 592-597.
- Saha, D., Bhattacharya, S., 2010, Characteristics of gellan gum based food gel, *Journal of Texture Studies*, 41, 459-471.
- Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E. & Vernon-Carter, E.J., 2004, Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers, *International Dairy Journal*, 14(2), 151-159.
- Saniah, K., Sharifah, M., 2012, the application of Stevia as sugar substitute in carbonated drinks using response surface methodology, *Journal of Tropical Agriculture and Food. Science*, 40(1), 23-34.
- Saulo, A.A., 2005, Sugars and sweeteners in food, *Food Safety Technology*; 16, 1-7.
- Shahbazizadeh, S., Khosravi, K. & Sohrabyandi, S., 2015, Fortification of Iranian Traditional Cookies with *Spirulina platensis*, *Annual Research and Review in Biology*, 7(3), 144-154.
- Tarrega, A. & Costell, E., 2007, Colour and consistency of semi-solid dairy desserts: Instrumental and sensory measurements, *Journal of Food Engineering*, 78, 655-661.
- Verbeken, D., Bael, K., Thas, O. & Dewettinck, K., 2006, Interactions between karrageenan milk proteins and modified starch in sterilized dairy desserts, *International Dairy Journal*, 16, 482-488.

Optimization of *Cantaloupe* pudding formula through replacing *Spirulina platensis* and stevia with milk powder and sugar using response surface methodology (RSM)

E. Shafiee¹, M. Goli^{*2}

Received: 2019.01.20

Accepted: 2019.07.01

Introduction: Milk dessert is a product that contains at least 50% the fresh cow milk or reconstituted milk, which is made with supplementary additives such as flavors, sweeteners, thickeners, and stabilizers, after undergoing heat treatment such as pasteurization or sterilization. *Spirulina platensis* is a multi-cellular microalgae and a green-blue filament that is a rich source of protein, essential amino acids, essential fatty acids, vitamins, minerals and pigments. Today, as a substitute for sucrose, non-caloric sweeteners are used, which in a small amount make too much sweetness, but they are not absorbed by the body. Of these, stevia with higher sweetness than sucrose (300 to 400 times), less calories and lower glycemia index, is a good herbal sweetener to replace sucrose.

Materials and methods: Factor A contains the percentage of algae *Spirulina platensis* (alternative to milk powder) at 5 levels (0-2 % of the final formula), factor B contains the percentage of stevia replacement with sucrose at 5 levels (0-100), to achieve optimal pudding production formula were selected. Optimization of formula was performed based on the parameters of syneresis, viscosity, hardness and cohesiveness by Response Surface Method (central composite design, $\alpha=2$ with 6 central points). The results were analyzed using SPSS 20 software and the comparison of the means was done by LSD at 5% level and the charts were drawn by Excel software.

Results & Discussion

Syneresis

Generally, due to the increase of molecular connections between the chains and the outflow of water from the structure is created. According to the results of Table 3, the independent effect of stevia replacement with sugar, the interaction effect of *Spirulina platensis* and stevia replacement, and the quadratic effect of each of the independent variables on the Syneresis factor were significant ($P < 0.05$). The rate of syneresis of the samples at higher levels of stevia replacement was reduced by decreasing the percentage of *Spirulina platensis* replacement, and at lower levels of stevia replacement, with the decrease in the percentage of *Spirulina platensis* replacement, the amount of syneresis significantly increased. Water holding capacity is linked to the ability of proteins, fats, and dietary fiber to maintain water inside the product structure. Because *Spirulina platensis* has high levels of protein, dietary fiber and fat, its presence in the formulation of frozen desserts has a significant effect on reducing the product's syneresis.

Viscosity

As shown in Table 3, the independent effect of *Spirulina platensis* replacement and stevia replacement, the interaction effect of *Spirulina platensis* and stevia replacement, the quadratic effect of *Spirulina platensis* and stevia replacement on the amount of viscosity was significant ($P < 0.05$). The level of viscosity at lower levels of stevia replacement decreased with a decreasing percentage of *Spirulina platensis* replacement, and at the higher levels of stevia replacement, reducing *Spirulina platensis* replacement percentage was no significant effect on the viscosity (Fig. 2). In general, the presence of *Spirulina platensis* in the pudding formulation increased its viscosity, which could be due to the *Spirulina platensis* protein structure and intercellular interactions. *Spirulina* with high water absorption reduces water mobility. Also, the presence of fiber and hydroxyl compounds in the structure of this fine algae has a significant effect on the viscosity of the product.

Hardness and cohesiveness

Replacement of *Spirulina platensis* and Stevia in pudding formulations did not have a significant effect on the hardness and cohesiveness of texture. While the interaction effect of *Spirulina platensis* and Stevia replacement on the

1. MSc, Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

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

hardness and cohesiveness of the pudding samples was significant ($P < 0.001$). The quadratic effect of *Spirulina platensis* and stevia replacement on the amount of hardness and cohesiveness of texture was significant ($P < 0.05$). At lower levels of stevia replacement, by increasing the *Spirulina platensis* replacement percentage, the hardness of the samples first increased and then decreased, while at higher levels of stevia replacement, with increasing *Spirulina platensis* replacement percentage, the hardness of the samples first decreased and then increased. Large particles of *Spirulina platensis* can cause unconnectedness and network connectivity and ultimately create a more sophisticated structure. In fact, *Spirulina platensis* protein molecules, having a hydrophilic property, compete with other molecules to bind to water molecules, which results in a weaker and more unstable gel structure. On the other hand, tissue hardness is largely dependent on dry matter, the amount and type of protein in the sample. High levels of protein cause cross-linking in the gel network and, ultimately, a rigid and dense structure. But it should be noted that the amount of sample fat plays an important role in the product's texture. Since *Spirulina platensis*, in addition to protein, also has significant amounts of fat, the intervention of the fatty molecules of this small algae can be effective in forming a weaker gel network and producing soft texture in the product. Finally, optimal formula 1 (2 % *Spirulina platensis* and 95% Stevia replacement) and optimal formula 2 (0.1% *Spirulina platensis* and 50% Stevia replacement) were predicted.

Keywords: *Spirulina platensis*, Stevia, Cantaloupe pudding, Formula optimization, Viscosity, Rheological properties

بررسی تأثیر نوع عسل (گون، کنار، مرکبات و آویشن) و شرایط نگهداری بر مهم ترین ویژگی های کیفی محصول

فاطمه خدائیان¹ - هاجر عباسی^{2*}

تاریخ دریافت: 1397/07/22

تاریخ پذیرش: 1398/03/21

چکیده

عسل، فرآورده ای حاصل از فعالیت زنبور عسل است که دارای ویژگی های ارگانولپتیک مطلوب و ارزش تغذیه ای بالا است. نوع گیاه، شرایط آب و هوایی منطقه و البته شرایط نگهداری محصول از جمله زمان و دمای نگهداری از عوامل تأثیرگذار بر کیفیت عسل هستند. در این پژوهش، پس از بررسی و مقایسه ویژگی های کیفی (نسبت فروکتوز به گلوکز، محتوای ساکارز، پلی فنل، هیدروکسی متیل فورفورال، رطوبت، اسیدیته آزاد، اسید لاکتونیک، اسیدیته کل، pH، رنگ، دیاستاز و هدایت الکتریکی) چهار نوع عسل ایرانی (گون، کنار، مرکبات و آویشن) جمع آوری شده به روش نمونه گیری تصادفی، تأثیر شرایط دمایی نگهداری (4، 23، 30 و 37 درجه سانتی گراد) به مدت 6 ماه متوالی، بر مهمترین ویژگی های کیفی محصول (هیدروکسی متیل فورفورال، پلی فنل، pH، رنگ) مورد بررسی قرار گرفت. چهار نمونه مورد بررسی از جهت فاکتورهای مورد بررسی با یکدیگر تفاوت معنی داری نشان دادند ($P \leq 0/05$). بیشترین محتوای ساکارز در عسل کنار و بالاترین نسبت فروکتوز به گلوکز و pH در عسل گون مشاهده شد. عسل آویشن حاوی بالاترین فعالیت دیاستازی و ترکیبات اسیدی و کمترین مقدار رطوبت و pH و عسل کنار محتوای بالاترین میزان لاکتونیک اسید و هدایت الکتریکی بود. مطابق نتایج، اثر نوع عسل بر تمام متغیرهای وابسته در سطح آماری 0/05 معنی دار ارزیابی شد. بررسی تأثیر شرایط نگهداری نشان داد که با افزایش زمان و دمای نگهداری، شدت روشنایی و زاویه رنگ نمونه ها کاهش و شاخص شدت رنگ در همه انواع عسل افزایش می یابد. محتوای پلی فنل اکثر نمونه ها خصوصاً در شرایط نگهداری در دمای 37 درجه سانتی گراد تا ماه سوم و چهارم کاهش و پس از آن افزایش یافت. ذخیره سازی منجر به افزایش معنی دار محتوای هیدروکسی متیل فورفورال در نمونه ها شد. از این رو تعیین شرایط و مدت زمان مناسب نگهداری انواع عسل با توجه به ویژگی های اولیه متفاوت آن ها به منظور بهره مندی از بهترین خصوصیات کیفی این محصول ضرورت دارد.

واژه های کلیدی: پلی فنل، پارامترهای رنگ، زمان و دمای نگهداری، ویژگی های کیفی، هیدروکسی متیل فورفورال.

مقدمه

پارامترهای رنگی محصول را تحت تأثیر قرار می دهد (Bath & Singh, 2000). عسل های با رنگ روشن، طعم ملائم تری دارند، درحالی که عسل های تیره تر طعم شدیدتر و عموماً محتوای ترکیبات معدنی بیشتری دارند (Gonzales et al., 1999). اجزای متنوعی در عسل ازجمله فنولیک اسیدها و فلاونوئیدها (Meda et al., 2005)، آنزیم های گلوکزاکسیداز و کاتالاز (Molan & Betts, 2004)، آسکوربیک اسید، پروتئین و کاروتنوئید (Alvarez-Suarez et al., 2010) با فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی مشاهده می شوند. در این میان، فنولیک اسیدها و فلاونوئیدها، آنتی اکسیدان های اصلی محصولات کندوخانه می باشند (Bertoncelj et al., 2007). ویتامین ها، رنگدانه ها و فلاونوئیدها از انواع ترکیبات متنوع فنلی به شمار می روند که اثرات مختلفی ازجمله ممانعت از بروز جهش و سرطان زایی را بر عهده دارند (Shun et al., 2003).

در حین فرآوری و ذخیره سازی محصول، به دلیل افت ترکیبات فنلی، وقوع واکنش میلارد و انجام واکنش های متنوع شیمیایی، ویژگی های کیفی محصول دستخوش تغییرات متنوعی می شود.

ترشحات مواد قندی درختان و شهد گل ها و گیاهان که توسط زنبور عسل جمع آوری، فرآوری و ذخیره می شود عسل نام دارد (Crane, 1975; White, 1962). این محصول خوشمزه و شیرین به عنوان غذایی با ارزش تغذیه ای بالا مورد مصرف قرار می گیرد (White, 1975). ویژگی های ظاهری و کیفی عسل از جمله رنگ و فعالیت آنتی اکسیدانی آن به پارامترهای متنوعی مانند منشأ گیاهی عسل (شرایط منطقه و گیاه مورد استفاده زنبور) وابسته است (Al-Mamary et al., 2002). رنگ عسل از سفید تا انواع متنوعی از زرد (زرد نارنجی، زرد مایل به سبز و طلایی)، کهربایی، عقیقی مایل به قرمز و حتی قهوه ای متغیر است. شرایط جغرافیایی و آب و هوایی،

1 و 2- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحداصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاداسلامی، اصفهان، ایران.

(*) - نویسنده مسئول: (Email: H.Abbasi@khuif.ac.ir)
DOI: 10.22067/iffstrj.v16i2.75826

سرعت انجام این تغییرات و تیره شدن رنگ محصول به ماهیت ترکیبات اولیه، میزان فعالیت آبی، pH، زمان و درجه حرارت به کار برده شده در فرایند و ذخیره سازی محصول وابسته است (Labuza & Baisier, 1992). در این راستا، یکی از مهمترین معیارهای کیفی عسل، محتوای هیدروکسی متیل فورفورال (HMF¹) محصول است. HMF یک آلدئید هتروسلیک شش کربنه است که از فوران با دو گروه آلدیدی و یک الکل مشتق شده است (Burdurlu & Karadeniz, 2003). مصرف مقادیر بالای HMF سلامتی انسان را به خطر می اندازد و جهش زا می باشد (فخری نژاد و همکاران، 1392). منابع اصلی تولید HMF انواع مختلف قندها به ویژه قندهای ساده ای مانند گلوکز و فروکتوز می باشند (سیدی و کفیلی، 1390). تولید HMF نتیجه اعمال فرایند حرارتی بر مواد غذایی غنی از فروکتوز و گلوکز است (Spano et al., 2006). بیشینه مقدار مجاز هیدروکسی متیل فورفورال در عسل مطابق استاندارد اجباری شماره 92 سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 40 میلی گرم در یک کیلوگرم محصول در نظر گرفته شده است. این فاکتور به عنوان یک معیار کیفی، از شاخص های مهم میزان حرارت دیدگی، عمر عسل تولید شده و احتمال اعمال تقلب در این فرآورده در نظر گرفته می شود (Nishi et al., 1989). کمیسیون بین المللی عسل نیز، HMF را به عنوان مهم ترین پارامتر برای تشخیص تازگی و کیفیت عسل معرفی کرده است. مطابق اظهارات این کمیسیون نیز، محتوای HMF عسل بعد از فرآوری از 40 میلی گرم در کیلوگرم نباید تجاوز کند، به استثنای عسل های تولید شده در کشورهای گرمسیر که بیشینه مجاز محتوای HMF در آنها 80 میلی گرم در کیلوگرم در نظر گرفته شده است (نعمتی و همکاران، 1389).

با توجه به تأثیرپذیری ویژگی های کیفی عسل به شرایط تولید و نگهداری، تاکنون مطالعات متنوعی در این زمینه صورت گرفته است. در این راستا Visquert و همکاران (2014)، اثر درجه حرارت 25، 30، 35 و 40 درجه سانتی گراد و مدت زمان ذخیره سازی 62 و 104 روز را بر رنگ، HMF و شاخص دیاستاز 4 نوع عسل (مرکبات، رزماری، اکالیپتوس² و پلی فلورال³) و عسلک⁴ ارزیابی کردند. کاهش درخشندگی، شاخص سفیدی، زاویه رنگ و شدت رنگ با افزایش درجه حرارت و زمان ذخیره سازی در عسل های مختلف با مقادیر متفاوت مشاهده شد. در تمام درجه حرارت های نگهداری، عسل مرکبات بالاترین شدت پارامترهای رنگی در کل دوره ذخیره سازی را نشان داد. در این میان عسلک کمترین شدت پارامترهای رنگی و همچنین تغییرات رنگ را نشان داد. با افزایش زمان و درجه حرارت،

HMF و شاخص دیاستاز همه نمونه های عسل افزایش یافت. در نهایت در این پژوهش گزارش شد که نوع عسل تأثیر بیشتری بر تغییرات HMF، شاخص دیاستاز و رنگ در مقایسه با شرایط ذخیره سازی دارد. B- Fallic و همکاران (2008 و 2007) نیز در طول ذخیره سازی چهارده نمونه مختلف عسل تجاری با منشأ گیاهی (اقاقیا، شاه بلوط، مرکبات، اکالیپتوس و مولتی فلورال) را برای مدت بیش از 18 ماه در درجه حرارت اتاق، ویژگی های کیفی آنها از جمله مقادیر HMF و دیاستاز را ارزیابی نمودند. نتایج نشان داد عمر مفید عسل تجاری به منشأ گیاهی و همچنین شرایط اعمال فرایند بر آن بستگی دارد. عمر مفید همه نمونه ها به غیر از شاه بلوط، کوتاه تر از مدت زمان اعلان شده برای آنها ارزیابی شد. کمترین مدت زمان نگهداری (15 ماه) برای عسل های مرکبات و اکالیپتوس و بیشترین زمان نگهداری (20 ماه) برای عسل های اقااقیا و چند گل گزارش شد. در همین راستا، Castro-Vázquez و همکاران (2008) نیز عسل مرکبات تازه را به مدت 12 ماه در حرارت های 10، 20 و 40 درجه سانتی گراد نگهداری کردند. فعالیت دیاستاز و محتوی HMF در نمونه های عسل نگهداری شده به مدت 12 ماه در حرارت 40 درجه سانتی گراد بود بیش از محدوده قابل قبول گزارش شد ولی تغییر این پارامترها در حرارت پایین واضح نبود.

با توجه به فقدان نتایج کافی در خصوص بررسی کامل ویژگی های کیفی عسل های ایرانی با توجه به منشأ متفاوت فلورال آنها و همچنین تأثیر شرایط دمایی مختلف با توجه به تنوع آب و هوایی در فصول یا مناطق مختلف کشور و عادات متفاوت ذخیره سازی این محصول، در این پژوهش پس از ارزیابی ویژگی های کیفی چهار عسل پرمصرف ایرانی، به چگونگی تغییرات خصوصیات کیفی آنها در طول زمان نگهداری در دماهای مختلف بررسی شد.

مواد و روش ها

در این پژوهش، 4 عسل آویشن، مرکبات، گون و کنار از شرکت تعاونی رویال عسل حقیقت اصفهان تأمین شد. با نمونه گیری تصادفی از حلب های مختلف، حدود 2 کیلوگرم نمونه از انواع عسل برداشته و در اسرع وقت به آزمایشگاه شرکت انتقال یافت.

ارزیابی ویژگی های کیفی نمونه های اولیه

خصوصیات شیمیایی چهار نمونه عسل از جمله محتوای هیدروکسی متیل فورفورال، رطوبت، pH، هدایت الکتریکی (مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1392)، محتوای پلی فنل (Singleton et al., 1999)، اسیدیته آزاد، لاکتونیک اسید، اسیدیته کل (Terrab et al., 2004) و رنگ نمونه ها (Hutchings, 1999; CEL, 1986) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

- 1 Hydroxy methyl furfural
- 2 Eucalyptus
- 3 Polyfloral
- 4 Honeydew

اختلاط، جذب در مقابل شاهد در طول موج‌های 284 و 336 نانومتر با سل 10 میلی‌متری کوارتز توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS مدل 6850 ثبت و مطابق معادله 2 میزان HMF محاسبه گردید (مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1392).

$$HMF = (A_{284} - A_{336}) \times 149.7 \times D/W \quad (2)$$

که در آن: W = وزن عسل (گرم) و D = ضریب رقت است.

pH

حدود 10 گرم عسل در یک بشر توزین، در 75 میلی‌لیتر آب مقطر بدون دی‌اکسیدکربن انحلال و با کمک دستگاه pH متر مدل 612 کالیبره شده، میزان pH در دمای 20 درجه سانتی‌گراد ارزیابی گردید (مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1392).

محتوای پلی‌فنل

1 گرم از هر نمونه عسل در 10 سی‌سی آب مقطر حل شد و از فیلتر 45 میکرومتری عبور داده شد. 0/5 سی‌سی از این محلول با 2/5 سی‌سی معرف Folin-Ciocalteu 0/2 مولار به مدت 5 دقیقه مخلوط شد. سپس 2 سی‌سی سدیم کربنات 0/7 مولار اضافه و مخلوط شد. بعد از انکوباسیون در تاریکی در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 2 ساعت، جذب مخلوط در 760 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در این آزمون از اسیدگالیک به‌عنوان استاندارد استفاده شد (Singleton et al., 1999).

رنگ

اندازه‌گیری رنگ عسل با استفاده از دستگاه CIELab صورت گرفت. بدین منظور هر نمونه درون سل مخصوص دستگاه قرار گرفت و سه پارامتر a^* ، b^* و L^* تعیین شد (Hutchings, 1999). شاخص شدت رنگ مطابق معادله 3 به‌عنوان معیاری از اشباع‌شدگی یا شدت رنگ و زاویه رنگ مطابق معادله 4 به‌عنوان شاخصی از محدوده رنگی نمونه مورد نظر در دایره رنگ اندازه‌گیری شدند (Visquert et al., 2014).

$$Chrom = (a^* + b^*)^{0.5} \quad (3)$$

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

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تأثیر متغیرهای این پژوهش، نوع عسل (گون، کنار، آویشن و مرکبات)، دمای نگهداری (4، 23، 30 و 37 درجه سانتی‌گراد) و زمان نگهداری (6 ماه به فواصل 30 روز) بر تغییر ویژگی‌های کیفی عسل در قالب طرح کاملاً تصادفی-آزمون فاکتوریل با استفاده از نرم‌افزار

محتوای قند (گلوکز، فروکتوز، ساکارز) موجود در نمونه‌ها نیز توسط دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. در این راستا ستون Agilent Carbohydrate با قطر و طول 4/6 و 20 میلی‌متر مورد استفاده قرار گرفت. فاز متحرک شامل 27 درصد آب و 73 درصد استونیتریل بود. دمای ستون 30 درجه سانتی‌گراد و حجم تزریق 20 میکرولیتر در نظر گرفته شد (Lichtenberg-Kraag & Bright, 2012).

به‌منظور ارزیابی شدت فعالیت دیاستازی نمونه‌ها (روش کمی)، محلول استاندارد از نشاسته قابل ارزیابی با ید به نمونه عسل افزوده و تحت تأثیر آنزیم‌های موجود در نمونه تحت شرایط استاندارد در معرض هیدرولیز آنزیمی قرار گرفت. کاهش رنگ آبی در فواصل زمانی معین، معیاری از شدت واکنش است. در این راستا، نمودار جذب بر حسب زمان در قالب یک معادله رگرسیونی حاصل و فعالیت آنزیم دیاستاز مطابق معادله 1 محاسبه گردید (مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1392).

$$DN = \frac{60}{\epsilon_{\%}} \times \frac{0.10}{0.01} \times \frac{1.0}{2.0} = \frac{300}{\epsilon_{\%}} \quad (1)$$

t_x = زمان رسیدن جذب مخصوص به 0/235.

نمونه‌ها در حجم‌های کوچک بسته‌بندی و در انکوباتورهایی با دماهای 23، 30 و 37 درجه سانتی‌گراد و همچنین درون یخچال با دمای 4-5 درجه سانتی‌گراد برای 6 ماه نگهداری شدند. به‌منظور بررسی تغییرات صورت گرفته در طی زمان نگهداری در شرایط مختلف، ویژگی‌های کیفی نمونه‌ها در پایان هر ماه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

ارزیابی ویژگی‌های کیفی نمونه‌ها در حین نگهداری

محتوای هیدروکسی متیل فورفورال

تعیین HMF بر اساس ارزیابی میزان جذب نمونه در طول موج 284 نانومتر انجام گرفت. به منظور جلوگیری از تداخل اثر جذب سایر ترکیبات در این طول موج، اختلاف جذب محلول شفاف عسل در آب با افزودن بی‌سولفیت و بدون آن تعیین می‌گردد. با کم کردن میزان جذب امواج پس زمینه در طول موج 336 نانومتر از میزان جذب در طول موج 284 نانومتر به‌دست آمد.

در این آزمون 5 گرم از نمونه عسل در یک بشر کوچک توزین، در 25 میلی‌لیتر آب مقطر انحلال و به بالن ژوئه 50 میلی‌لیتری انتقال داده شد. سپس 0/5 میلی‌لیتر از محلول‌های کاریز 1 (فروسیانور پتاسیم با سه مولکول آب) و کاریز 2 (استات روی با دو مولکول آب) به آن افزوده و نهایتاً به حجم رسانده شد. در دو لوله آزمایش، 5 میلی‌لیتر از محلول صاف شده عسل ریخته شد. به محتویات یک لوله، 5 میلی‌لیتر آب مقطر و به لوله دیگر جهت غیرفعال شدن جذب HMF، 5 میلی‌لیتر بی‌سولفیت سدیم (لوله شاهد) افزوده شد. پس از

SAS ورژن 9/2 مورد ارزیابی و مقایسه میانگین داده‌ها مطابق آزمون LSD ($\alpha = 0/05$) انجام شد. قابل ذکر است که کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام و نتایج آن مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج و بحث

مقایسه ویژگی‌های کیفی نمونه‌های عسل

مقایسه میانگین خصوصیات کیفی 4 عسل مورد بررسی در این پژوهش (گون، کنار، آویشن و مرکبات) که در جدول 1 آمده است نشان می‌دهد که از حیث خصوصیات کیفی، نمونه‌ها با یکدیگر تفاوت آماری معنی‌دار ($P \leq 0/05$) دارند. بیشترین محتوای ساکارز در عسل کنار مشاهده شد و میزان ساکارز این عسل بالاتر از حد مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران (کمتر از 5) برآورد شد (مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1392). بالاترین نسبت فروکتوز به گلوکز و pH در عسل گون مشاهده شد. عسل آویشن حاوی بالاترین فعالیت آنزیم دیاستاز و ترکیبات اسیدی و کمترین مقدار رطوبت و pH و عسل کنار محتوای بالاترین میزان لاکتونیک اسید و هدایت الکتریکی بود.

تفاوت در منشأ گیاهی انواع عسل، یکی از دلایل اصلی بروز اختلاف در ویژگی‌های کیفی آن‌هاست. در نمونه‌های عسل جمع‌آوری شده از نواحی مختلف استان آذربایجان شرقی، میزان ساکارز در محدوده 6/98- 1/98 با میانگین 4/06 گزارش شد (اسدی دیزاجی و همکاران، 2014). در مطالعه مشابهی بر نمونه‌های عسل اندونزی میزان ساکارز در محدوده 11/49- 0/14 با میانگین 3/76 گزارش شد (Serrano et al., 2004). محتوای ساکارز نمونه‌های عسل هندی بین 5- 0/4 و تنها یک نمونه حاوی 8/8 ساکاروز تشخیص داده شد. مصرف احتمالی شربت ساکارز توسط زنبور عسل و یا برداشت زود هنگام عسل در شرایطی که تبدیل کامل ساکارز به گلوکز و فروکتوز توسط زنبورهای کارگر صورت نگرفته باشد، از دلایل اصلی این مشاهده هستند (Crane, 1979; Saxena et al., 2010).

در میان چهار نمونه مورد بررسی، میزان HMF عسل کنار نسبت به سایر انواع عسل بالاتر بود (28/29 میلی‌گرم بر کیلوگرم). محتوای این ترکیب در دو نوع عسل گون و مرکبات کمتر از 5 میلی‌گرم بر کیلوگرم برآورد شد. با توجه به اینکه ماکزیمم میزان HMF قابل قبول در استاندارد ملی ایران 40 میلی‌گرم بر کیلوگرم در نظر گرفته شده است (مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1392)، همه نمونه‌ها از حیث این فاکتور در محدوده مجاز قرار داشتند. در مطالعه مشابهی بر نمونه‌های عسل جمع‌آوری شده در اندونزی، میزان HMF بین 53/8- 0/96 با میانگین 13/67 میلی‌گرم بر کیلوگرم (Serrano et al., 2004) و در مطالعه عسل‌های نواحی مختلف آذربایجان شرقی، کمیت این ترکیب 8/42- 4/23 با میانگین 6/03 میلی‌گرم بر

کیلوگرم گزارش شد (اسدی دیزاجی و همکاران، 2014). تفاوت در ویژگی‌های منشأ تولید عسل، شرایط حرارتی عسل حین فرایند و همچنین زمان و شرایط نگهداری محصول از عوامل مؤثر در تبدیل قندها به HMF است. از این رو محتوای کم HMF می‌تواند نشانگر شرایط مناسب فرآوری و یا تازگی محصول باشد (Saxena et al., 2010).

میزان درخشندگی (L^*) در عسل‌های آویشن و مرکبات بیشتر از دو نمونه عسل دیگر بود. بیشترین شدت سبزی رنگ مربوط به عسل آویشن و نمونه‌های گون و کنار زردی بالاتری در مقایسه با عسل مرکبات نشان دادند. در پژوهش دیگری بر ویژگی‌های کیفی عسل، عسل مرکبات، شفاف‌ترین نوع عسل و دارای بالاترین شدت رنگ معرفی شد (Visquert et al., 2014; Escriche et al., 2012). تغییر در محتوای معدنی، ترکیبات فنولیک و منشأ فلورال از اصلی‌ترین عوامل مؤثر بر تغییرات رنگ عسل هستند (Gonzalez-Miret et al., 2005).

در مطالعه حاضر، میزان پلی‌فنل در محدوده 23/39 تا 30/3 میلی‌گرم گالیک‌اسید در 100 گرم عسل برآورد شد. در این میان عسل آویشن حاوی بالاترین محتوای ترکیبات پلی‌فنل بود. میانگین پلی‌فنل گزارش شده در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف بسیار متفاوت گزارش شده است. کمیت ترکیبات فنولیک عسل در نمونه‌های عسل هند در محدوده 47 تا 98 میلی‌گرم گالیک‌اسید بر 100 گرم (Saxena et al., 2010)، در نمونه‌های عسل آرژانتین و اسلونیایی، در محدوده 64 تا 1304 و 448 تا 2414 میلی‌گرم گالیک‌اسید در 100 گرم (Bertoncelj et al., 2007) و در استاندارد Codex Alimentarius، 688/5- 152/4 میلی‌گرم گالیک‌اسید بر کیلوگرم گزارش شده است (Islam et al., 2012). غلظت و نوع مشتقات پلی‌فنل در عسل متغیر و وابسته به منبع فلورال نمونه مورد نظر است (Küçük et al., 2007). فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک (کافئیک¹، کوماریک²، فرولیک³، الازیک⁴ و کلروژنیک⁵)، اسید آسکوربیک، کاتالاز، پروکسیداز، کاروتنوئیدها و فرآورده‌های حاصل از واکنش مایلارد، اصلی‌ترین عوامل مؤثر در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل می‌باشند. مقدار این ترکیبات با توجه به منشأ گیاهی و جغرافیایی عسل بسیار متغیر است. به‌علاوه آماده‌سازی، فرآوری و ذخیره‌سازی عسل در تغییر ترکیبات و ویژگی‌های کیفی آن مؤثر است (Turkmen et al., 2006).

- 1 Caffeic
- 2 Coumaric
- 3 Ferrulic
- 4 Ellagic
- 5 Chlorogenic

مراتب بعدی قرار می‌گیرند (Sancho *et al.*, 1991). تغذیه بیش از حد زنبور با ساکارز و سایر مواد قندی از عوامل نامطلوب مؤثر بر محتوای معدنی عسل است (Ozcan *et al.*, 2006). محتوای رطوبت نمونه‌ها در این پژوهش 14/5- 16/5 درصد و pH آن‌ها در محدوده 4/04 تا 4/38 متغیر بود. در این راستا محتوای رطوبت نمونه‌های عسل آرژانتین 21- 17/9 درصد وزنی (Tosi *et al.*, 2004)، عسل نواحی مختلف آذربایجان شرقی 15/98- 18/62 درصد وزنی (اسدی دیزاجی و همکاران، 2014) و نمونه‌های عسل اسپانیایی 14/2- 19/8 درصد وزنی (Terrab *et al.*, 2004) گزارش شدند. pH نمونه‌های عسل اندونزی 3/7- 4/6 (Serrano *et al.*, 2004) و نمونه‌های عسل اسپانیایی 4/79- 3/56 با میانگین 4/2 (Terrab *et al.*, 2004) گزارش شده اند که با محدوده مشاهده شده در مطالعه حاضر مطابقت دارد.

هدایت الکتریکی یک پارامتر کیفی مهم در عسل است که عموماً برای تعیین عسلک مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدایت الکتریکی بیش از 0/8 میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر مربوط به نمونه عسلک می‌باشد (Visquert *et al.*, 2014). در مطالعه حاضر بالاترین میزان هدایت الکتریکی مربوط به عسل کنار و معادل 0/142 میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر گزارش شد. کمیت این پارامتر در نمونه‌های عسل اسپانیایی در محدوده 288- 559 میکروزیمنس بر سانتی‌متر (Terrab *et al.*, 2004) و در نمونه‌های عسل اندونزی در محدوده 0/68- 0/11 میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر (Serrano *et al.*, 2004) گزارش شده است. محتوای معدنی محصول ارتباط تنگاتنگ با هدایت الکتریکی آن دارد. علی‌رغم محتوای ناچیز مواد معدنی عسل در مقایسه با سایر اجزاء موجود، تغییرات آن در نمونه‌های مختلف چشمگیر است. پتاسیم مهمترین ماده معدنی موجود در عسل است و پس از آن سدیم، کلسیم، منیزیم، آهن، مس، سیلیکون، فسفر، سولفور، کلرین و ... در

جدول 1- مقایسه میانگین خصوصیات شیمیایی عسل‌های گون، کنار، آویشن و مرکبات

نوع عسل	گون	کنار	آویشن	مرکبات
ساکارز (گرم در 100)	4/80±0/30 ^b	6/57±0/23 ^a	1/05±0/14 ^d	1/90±0/10 ^c
نسبت فروکتوز به گلوکز	1/21±0/01 ^a	1/06±0/01 ^d	1/19±0/01 ^b	1/12±0/01 ^c
محتوای پلی‌فنل (میلی‌گرم گالیک اسید در 100 گرم)	23/39±0/95 ^c	28/32±0/69 ^b	30/30±1/01 ^a	25/15±1/14 ^c
هیدروکسی متیل فورفورال (میلی‌گرم در کیلوگرم)	4/59±0/17 ^c	28/29±0/69 ^a	12/82±0/57 ^b	1/99±0/38 ^d
رطوبت (%)	14/50±0/10 ^c	14/50±0/20 ^c	15/50±0/10 ^b	16/50±0/20 ^a
pH	4/38±0/01 ^a	4/06±0/00 ^c	4/04±0/01 ^d	4/08±0/01 ^b
اسیدیته آزاد (میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم)	6/00±0/00 ^d	12/00±0/50 ^b	15/50±1/00 ^a	10/50±0/50 ^c
اسیدیته لاکتونیک (میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم)	0/92±0/13 ^{ab}	1/05±0/05 ^a	0/82±0/08 ^b	0/97±0/03 ^a
اسیدیته کل (میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم)	6/92±0/13 ^d	13/05±0/45 ^b	16/32±0/93 ^a	11/47±0/48 ^c
a*	-5/22±0/01 ^a	-7/34±0/01 ^b	-8/05±0/01 ^c	-5/22±0/01 ^a
b*	35/41±0/01 ^a	35/41±0/01 ^a	30/54±0/01 ^b	25/66±0/01 ^c
L*	70/85±0/01 ^b	70/85±0/01 ^b	77/24±0/01 ^a	77/24±0/01 ^a
دیاستاز	2/27±0/07 ^b	2/61±0/39 ^b	3/27±0/18 ^a	1/43±0/2 ^c
هدایت الکتریکی (میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر)	0/10±0/01 ^d	0/14±0/01 ^a	0/11±0/01 ^b	0/10±0/01 ^c

در هر ستون، میانگین‌هایی (±) انحراف معیار) که دارای حروف مشترک هستند، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند

عسل‌های مختلف از این حیث به‌منظور بررسی خلوص عسل استفاده می‌شود (White, 1978). شرایط نگهداری ناسالم، استفاده بیش از حد

اسیدیته کل عسل معیاری است برای ارزیابی فساد به علت ذخیره‌سازی و کهنگی یا پارامتری است که به‌واسطه تفاوت‌های

علت اصلی تفاوت مشاهده شده در نتایج حاصل از عسل‌های مختلف است.

ارزیابی اثر شرایط نگهداری بر ویژگی‌های عسل

ارزیابی ویژگی‌های کیفی چهار عسل گون، کنار، آویشن و مرکبات (محتوای پلی‌فنل، HMF، رنگ (a^* ، b^* ، L^* ، زاویه رنگ و شدت رنگ) و pH) در مدت شش ماه با فواصل زمانی یک ماهه انجام شد. نتایج جدول تجزیه واریانس اثر نوع عسل (گون، کنار، آویشن و مرکبات)، زمان نگهداری (شش ماهه به فواصل یک ماه)، دمای محل نگهداری (4، 23، 30 و 37 درجه سانتی‌گراد) و اثر متقابل آن‌ها بر ویژگی‌های کیفی مورد مطالعه در محصول در جدول 2 آمده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، شرایط نگهداری و نوع محصول تأثیر معنی‌داری ($\alpha = 0/01$) بر خصوصیات کیفی آن دارند.

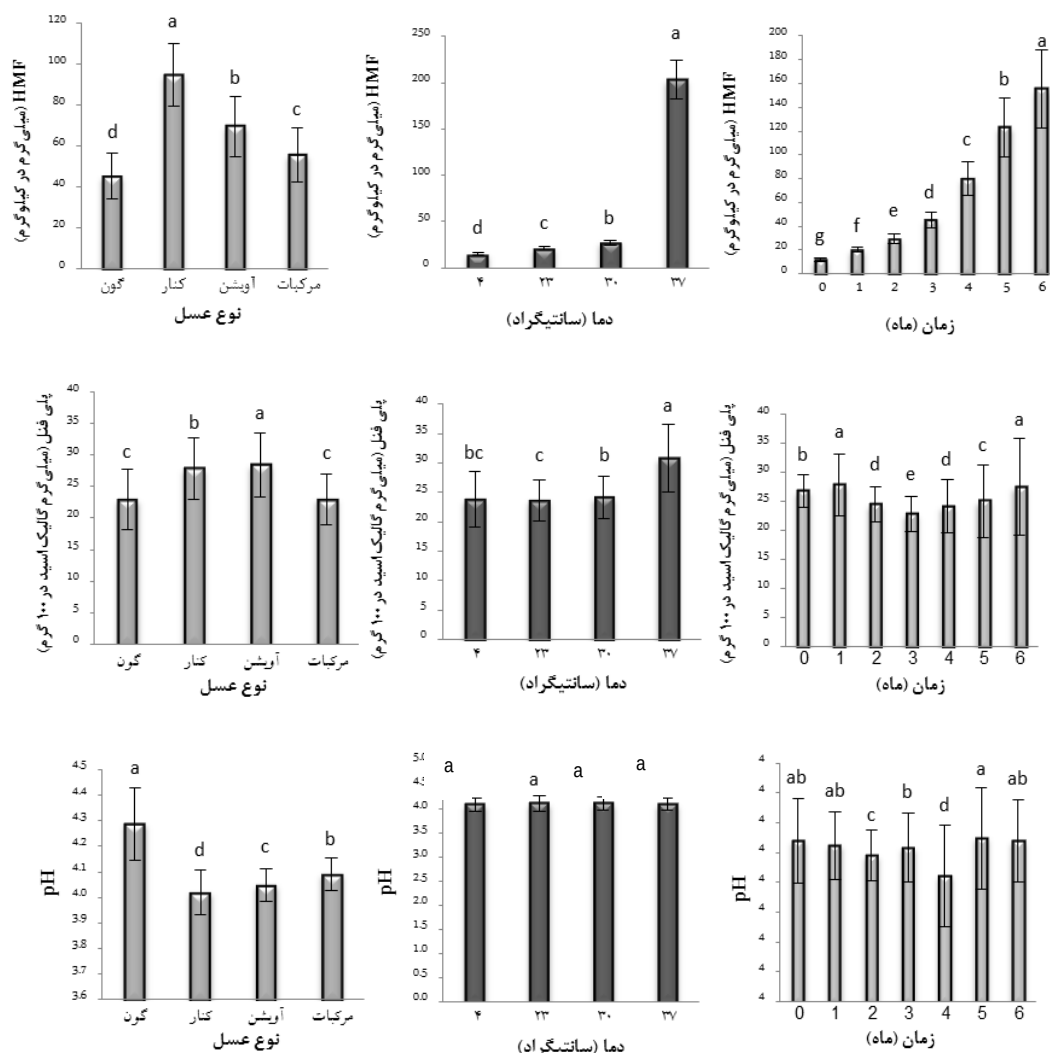
مقایسه میانگین اثر متغیرهای مستقل پژوهش بر محتوای HMF، پلی‌فنل و pH محصول در شکل 1 و مقایسه میانگین اثرات متقابل نوع عسل و زمان نگهداری، نوع عسل و دمای نگهداری، زمان و دمای نگهداری بر ویژگی‌های کیفی محصول به‌ترتیب در جدول‌های 3، 4 و 5 آمده است.

از داروهای دامپزشکی، تغذیه زنبور با ساکارز یا سایر منابع شیرین‌کننده و برداشت زودتر از موعد محصول از عوامل مؤثر بر کاهش ویژگی‌های کیفی عسل هستند (Bakan, 2002). اسیدهای ارگانیک قسمت کوچکی از عسل را تشکیل می‌دهند (0/5 درصد) و تاکنون 19 اسید ارگانیک از جمله اسید سیتریک، مالیک، مالئیک، فوماریک و سوکسینیک در عسل شناخته شده که برای تشخیص انواع عسل قابل استفاده هستند (Crane E. 1990). اسید سیتریک عموماً اسید غالب در اغلب انواع عسل است و غلظت آن به‌عنوان یک پارامتر قابل اطمینان برای تشخیص دو نوع عسل فلورال و عسلک استفاده می‌شود (Talpay, 1988). اسیدیته لاکتونیک، معیاری از محتوای اسید باقیمانده در عسل بلافاصله پس از ایجاد محیطی قلیایی است. در مطالعه حاضر اسیدیته کل از 6/92 تا 16/32 متغیر بود که این ویژگی در نمونه‌های عسل نواحی مختلف آذربایجان شرقی در محدوده 18/23 - 16/20 با میانگین 17/52 (اسدی دیزاجی و همکاران، 2014) و در نمونه‌های عسل اسپانیایی در محدوده 25/6-48/6 با میانگین 34/5 (Terrab et al., 2004) گزارش شده است. محتوای اسیدیته لاکتونیک نمونه‌های حاضر 0/82 تا 1/05 و محتوای اسیدیته لاکتونیک در تعدادی از عسل‌های اسپانیایی 4/3 تا 11/3 گزارش شدند (Terrab et al., 2004). تفاوت در منبع فلورال مورد استفاده در مناطق مختلف، شرایط تولید و نگهداری محصول،

جدول 2- تجزیه واریانس اثر نوع عسل، زمان و دمای محیط نگهداری و اثر متقابل آن‌ها بر ویژگی‌های کیفی محصول

میانگین مربعات								
منابع تغییرات	DF	پلی‌فنل (میلی‌گرم گالیک اسید در 100 گرم)	HMF (میلی‌گرم در کیلوگرم)	pH	a	b	L	شدت رنگ زاویه رنگ
عسل	3	759/89**	38654/18**	1/231**	160/03**	1176/68**	32/08**	404/44**
زمان نگهداری	6	168/51**	145488/21**	0/094**	768/81**	725/24**	320/40**	2057/70**
دمای نگهداری	3	1012/44**	697929/49**	0/007 ^{ns}	4619/79**	1243/52**	2534/68**	8509/49**
عسل × زمان	18	9/48**	1010/25**	0/062**	62/84**	37/74**	54/25**	166/39**
عسل × دما	9	5/20**	3664/35**	0/006 ^{ns}	105/81**	141/25**	43/23**	279/21**
زمان × دما	18	147/92**	115090/36**	0/007**	658/46**	490/60**	314/34**	1446/10**
عسل × زمان × دما	54	4/08**	966/02**	0/006**	44/64**	59/60**	16/35**	88/35**
خطا	224	1/01	0/96	0/004	0/05	6/04	5/90	6/00
ضریب تغییرات (%)		3/92	1/48	1/49	58/87	6/18	3/35	2/69

^{ns}: عدم معنی‌دار شدن. **: معنی‌دار شدن در سطح آماری 0/01.

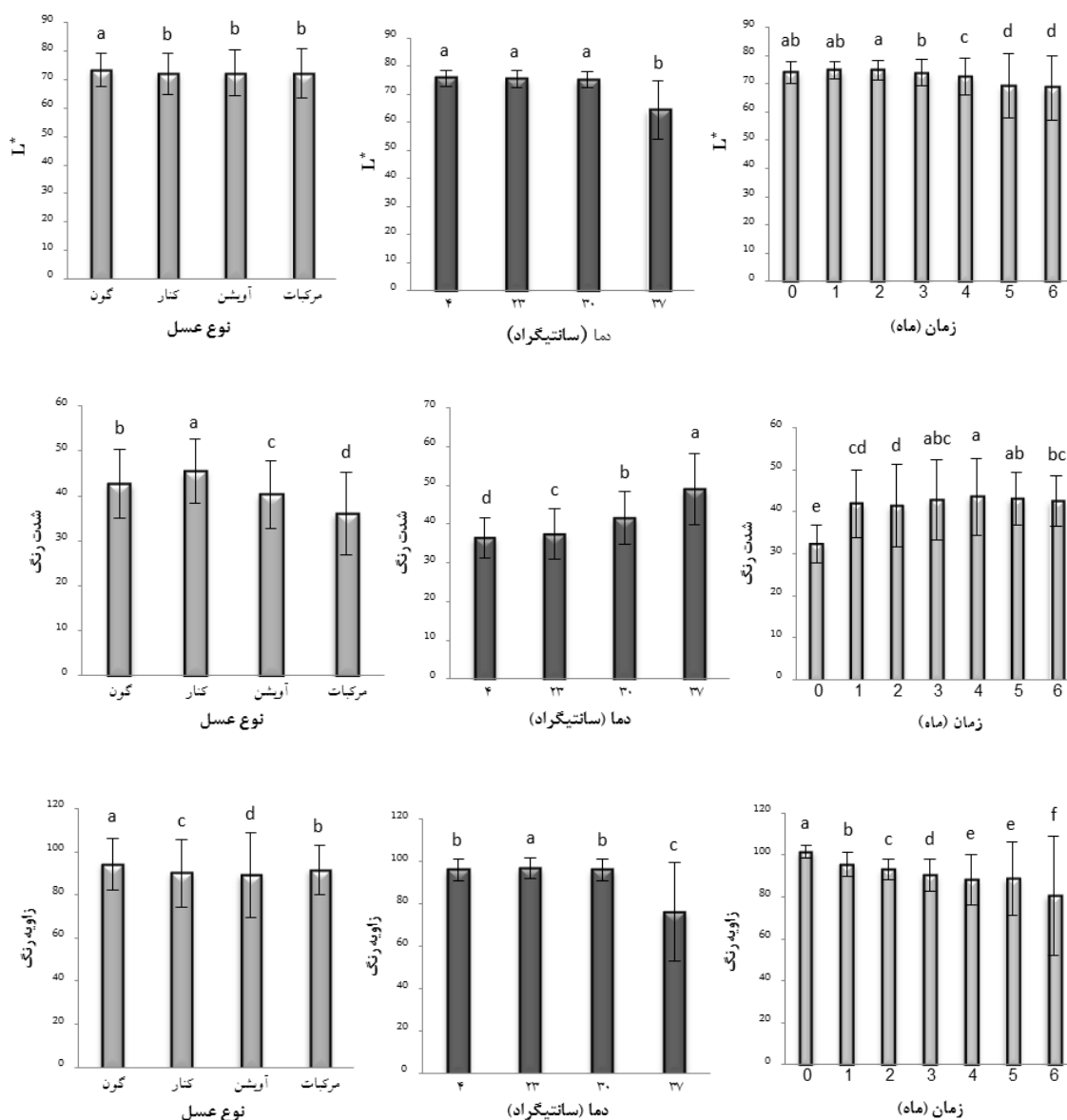


شکل 1- مقایسه میانگین تأثیر انواع عسل، دما و مدت زمان نگهداری بر محتوای HMF، پلی فنل و pH محصول. میانگین‌های ($\pm$ انحراف معیار) دارای حروف مشترک، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0/05$) با هم ندارند.

ترکیب حاصل تجزیه قندهای ساده (مونوساکاریدها) به‌ویژه فروکتوز در شرایط اسیدی است که طی عمل‌آوری شهد در کندو تشکیل می‌شود. در حقیقت فعالیت اینورتاز و دیاستاز از عوامل اصلی تشکیل‌دهنده HMF هستند و مانند سایر واکنش‌های شیمیایی آنزیمی، سرعت تشکیل آن با افزایش دما، افزایش می‌یابد. عسل‌های حاوی محتوای HMF بالا، معمولاً تیره‌تر و از کیفیت پایین‌تری برخوردارند (Sabarez et al., 1997). غلظت HMF می‌تواند یکی از فاکتورهای تازگی عسل محسوب شود چراکه حین پردازش عسل و به مرور زمان، محتوای آن افزایش می‌یابد. فاکتورهای مختلفی مانند دما، مدت زمان حرارت‌دهی، شرایط ذخیره‌سازی، pH و منبع فلورال،

مطابق نتایج، با در نظر گرفتن شرایط نگهداری، عسل کنار بیشترین و عسل گون کمترین میزان HMF را داراست. با افزایش زمان و دمای نگهداری نیز، محتوای HMF نمونه‌ها افزایش یافت و تأثیر افزایش دمای 37 درجه سانتی‌گراد در مقایسه با سایر دماهای نگهداری بسیار چشمگیر بود. مطابق جدول 3 و 4، بیشترین میزان HMF در عسل کنار پس از ماه ششم نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و کمترین میزان آن در عسل مرکبات در ابتدای تهیه نمونه مشاهده شد. HMF یکی از معیارهای اصلی تعیین کیفیت عسل است. این ترکیب در عسل از طریق آب‌زدایی هگروز به‌ویژه در pH=5 و یا کمتر و یا توسط واکنش مایلارد تشکیل می‌شود. این

محتوای HMF را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بنابراین این فاکتور همچنین می‌تواند معیاری از نحوه فرآوری یا شرایط نگهداری عسل باشد (Khalil et al., 2010).



شکل 2- مقایسه میانگین تأثیر انواع عسل، دمای نگهداری و مدت زمان نگهداری بر کیفیت رنگ محصول میانگین‌هایی ($\pm$ انحراف معیار) که دارای حروف مشترک هستند، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0/05$) ندارند.

1392)، ولی در دمای 37 درجه سانتی‌گراد حتی در ماه دوم نگهداری، میزان HMF از حد مجاز استاندارد ملی ایران تجاوز کرد. در مورد عسل کنار میزان HMF اولیه عسل بالاتر از سایر نمونه‌ها بود و در این نمونه تنها در صورت نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد،

مطابق جداول 3 و 4، در همه انواع عسل به‌جز عسل کنار، میزان HMF در طی نگهداری به مدت 6 ماه در دمای زیر 30 درجه سانتی‌گراد، کمتر از ماکسیمم مقدار مجاز استاندارد ملی برای این ترکیب برآورد شد (مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران،

محتوای HMF تا پایان 6 ماهه نگهداری کمتر از حد مجاز برآورد شد و در سایر شرایط نگهداری، تنها پس از یک ماه، میزان HMF در محدوده غیرمجاز قرار گرفت. در نتیجه براساس نتایج این پژوهش، در صورتی که محتوای HMF عسل به هر دلیل در ابتدای دوره نگهداری بالا باشد، بهترین شرایط دمایی نگهداری آن، دمای یخچال است.

جدول 3- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع عسل و مدت زمان نگهداری بر ویژگی‌های کیفی محصول

متغیرهای مستقل						متغیرهای وابسته	
نوع عسل	زمان (ماه)	HMF	pH	پلی فنل	L رنگ	زاویه رنگ	شدت رنگ
گون	آغاز نمونه برداری	4/59±0/04 ⁱ	4/38±0/01 ^a	23/39±0/81 ^{f-j}	70/85±2/04 ^{b-h}	98/38±2/04 ^{a-e}	35/79±2/04 ^{fgh}
	1	7/22±1/26 ⁱ	4/30±0/02 ^c	24/88±3/73 ^{e-i}	76/14±2/51 ^{ab}	99/03±3/43 ^{a-d}	43/53±4/04 ^{a-d}
	2	17/12±5/32 ^{hi}	4/12±0/03 ^{def}	21/83±2/07 ^{ij}	75/03±3/84 ^{a-d}	96/23±6/87 ^{a-f}	42/19±8/27 ^{b-e}
	3	29/19±10/47 ^{f-i}	4/31±0/03 ^{bc}	20/50±2/60 ^j	75/27±3/00 ^{abc}	93/89±5/21 ^{a-f}	44/63±10/90 ^{a-d}
	4	50/08±20/71 ^{d-i}	4/16±0/11 ^{de}	21/91±4/81 ^{ij}	74/66±4/54 ^{a-e}	92/61±9/11 ^{b-g}	45/51±10/36 ^{abc}
	5	86/30±38/40 ^{b-i}	4/39±0/03 ^a	22/83±5/97 ^{hij}	72/94±8/06 ^{a-f}	92/78±15/41 ^{b-g}	43/80±4/92 ^{a-d}
کنار	6	123/06±57/46 ^{a-f}	4/36±0/01 ^{ab}	25/09±8/41 ^{e-i}	69/49±10/21 ^{d-h}	86/38±23/31 ^{fgh}	43/45±5/73 ^{a-d}
	آغاز نمونه برداری	28/29±0/17 ^{ghi}	4/06±0/00 ^{ghi}	28/32±0/58 ^{b-e}	70/85±2/04 ^{b-h}	101/71±2/04 ^{ab}	36/16±2/04 ^{fgh}
	1	44/22±3/64 ^{d-i}	4/00±0/01 ^{kl}	31/60±4/61 ^{ab}	74/41±3/08 ^{a-e}	92/37±5/08 ^{b-g}	48/50±5/24 ^a
	2	51/40±8/42 ^{d-i}	3/96±0/02 ^l	27/30±1/36 ^{cde}	74/91±4/19 ^{a-d}	90/44±3/98 ^{c-h}	45/47±6/59 ^{abc}
	3	69/73±12/78 ^{c-i}	4/04±0/01 ^{hij}	24/96±1/75 ^{e-i}	74/04±3/41 ^{a-f}	92/04±6/37 ^{b-h}	46/16±9/57 ^{abc}
	4	107/92±29/13 ^{b-h}	3/87±0/04 ^m	26/13±3/80 ^{e-h}	71/95±7/16 ^{a-g}	87/21±13/04 ^{e-h}	47/14±6/68 ^{ab}
مرکبات	5	159/19±54/51 ^{abc}	4/12±0/09 ^{ef}	26/99±6/16 ^{c-f}	69/99±9/21 ^{c-h}	85/97±20/60 ^{fgh}	48/52±5/74 ^a
	6	203/84±76/16 ^a	4/09±0/02 ^{fgh}	29/87±7/98 ^{a-d}	68/56±12/76 ^{fgh}	80/93±30/18 ^{hi}	46/14±4/74 ^{abc}
	آغاز نمونه برداری	1/99±0/09 ⁱ	4/08±0/01 ^{fgh}	25/15±0/97 ^{e-i}	77/24±2/17 ^a	101/49±2/17 ^{abc}	26/19±2/17 ⁱ
	1	9/61±2/31 ⁱ	4/11±0/07 ^{efg}	23/10±2/38 ^{g-j}	74/41±3/29 ^{a-e}	96/51±6/62 ^{a-f}	35/27±6/59 ^{gh}
	2	20/32±7/27 ^{hi}	4/17±0/02 ^d	21/92±1/11 ^{ij}	74/54±3/33 ^{a-e}	91/72±3/39 ^{b-h}	37/64±12/65 ^{efg}
	3	31/86±11/03 ^{e-i}	4/06±0/02 ^{ghi}	21/04±2/03 ^j	73/31±5/70 ^{a-f}	86/59±8/46 ^{fgh}	38/88±9/88 ^{d-g}
آویشن	4	74/81±31/43 ^{b-i}	4/01±0/04 ^{ijk}	22/14±4/01 ^{ij}	72/32±6/61 ^{a-g}	86/17±10/69 ^{fgh}	37/53±10/64 ^{efg}
	5	124/73±56/00 ^{a-e}	4/11±0/02 ^{efg}	23/13±5/69 ^{g-j}	65/17±16/67 ^h	95/61±4/57 ^{a-f}	36/64±4/74 ^{e-h}
	6	127/37±56/78 ^{a-d}	4/09±0/09 ^{fgh}	24/74±6/94 ^{e-i}	69/74±9/68 ^{c-h}	82/33±20/60 ^{ghi}	40/49±7/21 ^{c-g}
	آغاز نمونه برداری	12/82±0/14 ⁱ	4/04±0/01 ^{hij}	30/30±0/86 ^{abc}	77/24±1/81 ^a	104/76±1/81 ^a	31/58±1/81 ^{hi}
	1	20/53±2/31 ^{hi}	4/09±0/02 ^{fgh}	32/05±3/16 ^a	74/04±3/43 ^{a-f}	94/51±4/50 ^{a-f}	40/50±9/70 ^{c-g}
	2	29/01±8/09 ^{f-i}	4/11±0/01 ^{efg}	27/05±1/39 ^{cde}	74/91±2/41 ^{a-d}	94/73±2/55 ^{a-f}	40/42±10/15 ^{c-g}

محدوده مجاز قرار گرفت. افزایش در مقادیر HMF در حین ذخیره سازی در دماهای مختلف در مطالعات دیگر هم گزارش شده است (Bulut & Singh & Bath, 1997; Sancho *et al.*, 1992) (2000) Bath & Singh. (Visquert *et al.*, 2014; Kilic, 2009;

در این راستا، Castro-Vázquez و همکاران (2008) با ذخیره سازی عسل مرکبات تازه به مدت 12 ماه در دماهای 20، 30 و 40 درجه سانتی گراد گزارش کردند که محتوای HMF عسل نگهداری شده در دمای 40 درجه سانتی گراد بعد از 12 ماه خارج از

نیز گزارش کردند که مدت زمان ذخیره سازی مهم ترین تاثیر در تغییرات HMF را دارد.

جدول 4- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع عسل و دمای محیط نگهداری بر ویژگی های کیفی محصول

متغیرهای وابسته				متغیرهای مستقل			
شدت رنگ	زاویه رنگ	L رنگ	پلی فنل	pH	HMF	دما (°C)	نوع عسل
37/36±3/39 ^{fg}	99/56±3/63 ^a	76/60±3/45 ^a	20/66±3/19 ^e	4/28±0/12	4/86±0/29 ^c	4	گون
39/14±3/78 ^{efg}	96/83±5/11 ^{ab}	74/14±3/78 ^a	20/56±1/32 ^e	4/32±0/21	8/84±0/59 ^c	23	گون
42/48±4/19 ^{de}	98/55±3/60 ^{ab}	75/34±2/84 ^a	21/83±2/93 ^e	4/27±0/12	12/95±1/45 ^c	30	گون
51/82±8/24 ^a	81/78±17/87 ^c	67/82±7/96 ^b	28/60±5/33 ^b	4/27±0/11	154/79±34/89 ^b	37	گون
40/06±3/75 ^{ef}	97/14±3/11 ^{ab}	75/41±2/78 ^a	26/80±5/12 ^{bcd}	4/01±0/09	34/76±0/86 ^c	4	کنار
42/82±4/70 ^{cde}	96/13±4/43 ^{ab}	74/50±2/88 ^a	26/34±2/67 ^{cd}	4/02±0/10	44/63±2/21 ^c	23	کنار
47/34±6/07 ^b	95/07±4/32 ^{ab}	74/87±3/51 ^a	25/79±1/82 ^{cd}	4/01±0/09	54/61±4/02 ^c	30	کنار
51/54±7/66 ^a	72/02±22/80 ^d	63/60±8/91 ^c	32/58±5/33 ^a	4/02±0/07	245/74±47/83 ^a	37	کنار
36/25±5/82 ^g	95/09±5/69 ^{ab}	74/99±2/39 ^a	26/55±4/19 ^{bcd}	4/04±0/04	14/43±0/42 ^c	4	آویشن
37/74±4/73 ^{fg}	97/29±4/79 ^{ab}	76/89±2/46 ^a	26/28±2/43 ^{cd}	4/05±0/03	18/81±0/9 ^c	23	آویشن
40/87±5/36 ^{ef}	95/40±5/64 ^{ab}	74/50±2/39 ^a	27/21±3/57 ^{bcd}	4/06±0/03	25/02±2/11 ^c	30	آویشن
46/51±9/38 ^{bc}	68/78±30/66 ^d	62/90±11/03 ^c	33/77±5/68 ^a	4/02±0/12	220/64±44/98 ^a	37	آویشن
32/16±4/69 ^h	92/01±4/61 ^b	75/41±2/55 ^a	21/21±2/40 ^e	4/07±0/06	4/77±0/59 ^c	4	مرکبات
30/14±5/03 ^h	97/02±4/67 ^{ab}	75/76±2/39 ^a	21/25±1/73 ^e	4/08±0/04	11/4±1/01 ^c	23	مرکبات
36/07±6/50 ^g	94/92±5/84 ^{ab}	75/34±2/87 ^a	21/54±1/75 ^e	4/11±0/09	16/37±2/56 ^c	30	مرکبات
46/00±10/18 ^{bcd}	81/98±18/17 ^c	63/03±13/17 ^c	28/11±4/43 ^{bc}	4/09±0/04	190/7±40/37 ^{ab}	37	مرکبات

آن تأثیر دارد. در مطالعه Wang و همکاران (2004)، قابلیت آنتی اکسیدانی دو نمونه عسل شیدر و گندم سیاه که به مدت 6 ماه در دماهای اتاق، 4 و 20- درجه سانتی گراد نگهداری شده بودند، مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی همه نمونه های عسل پس از 6 ماه نگهداری کاهش یافت. فعالیت آنتی اکسیدانی عسل های شیدر فرایند شده و خام به ترتیب 26 و 32 درصد پس از 6 ماه کاهش یافت. قابلیت آنتی اکسیدانی عسل های گندم سیاه فرایند شده و خام نیز به ترتیب 24 و 49 درصد کاهش یافت. در مطالعه حاضر مطابق جدول 3، میزان پلی فنل در اغلب عسل ها تا ماه سوم و چهارم کاهش و بعد از آن افزایش یافت. اما مطابق جدول 5، با افزایش دما، میزان پلی فنل افزایش یافت و افزایش میزان پلی فنل در دمای 37 درجه سانتی گراد از ماه چهارم به بعد در همه انواع عسل ها قابل مشاهده بود. در واقع نگهداری عسل ها در دمای 37 درجه سانتی گراد مؤثرتر از سایر دماها بر تغییر محتوای پلی فنل و رنگ آن ها بود. در مطالعه Turkmen و همکاران (2006) نیز بررسی تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی کل و محتوای پیگمان قهوه ای در عسل حرارت دیده در دماهای مختلف 50، 60 و 70 درجه سانتی گراد به مدت 12 روز نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان پیگمان قهوه ای با حرارت و زمان افزایش می یابد که با

با بررسی ویژگی های عسل در تمام دوره نگهداری، بالاترین میزان پلی فنل در عسل آویشن و کمترین میزان آن در عسل گون و مرکبات (بدون وجود اختلاف معنی داری میان آن ها در سطح پنج درصد آزمون LSD) مشاهده شد. بررسی اثر دما نشان می دهد که در نمونه های نگهداری شده در دمای 37 درجه سانتی گراد، با اختلاف معنی داری ($P \leq 0/05$)، بالاترین محتوای پلی فنل مشاهده می شود. به علاوه در اوایل و اواخر دوره نگهداری، محتوای پلی فنل بالاتری در مقایسه با سایر زمان های نگهداری مشاهده گردید. مطابق جدول 3 و 4، حداکثر میزان پلی فنل مربوط به عسل آویشن نگهداری شده در دمای 37 درجه سانتی گراد پس از شش ماه نگهداری و حداقل میزان پلی فنل در عسل گون نگهداری شده در دمای 4 درجه سانتی گراد پس از چهار ماه نگهداری گزارش شد. مطابق نتایج جدول 5، افزایش محتوای پلی فنل نمونه های نگهداری شده در دمای 37 درجه سانتی گراد پس از چهار ماه نگهداری چشمگیر بود.

عسل به عنوان یکی از انواع منابع آنتی اکسیدانی طبیعی شناخته می شود که در جلوگیری از واکنش های اکسیداسیون تخریبی مانند قهوه ای شدن میوه ها و سبزی ها (Chen et al., 2000) و اکسیداسیون چربی (Antony et al., 2000) مؤثر است. مسلم است که نوع و شرایط نگهداری عسل قطعاً بر خصوصیات آنتی اکسیدانی

یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد. Gonzales و همکاران (1999) نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در مقایسه با دماهای 25، 30 و 35 درجه سانتی‌گراد گزارش کردند. نیز بیشترین مقدار قهوه‌ای شدن در اثر واکنش مایلارد را در طول

جدول 5- مقایسه میانگین برخی از ویژگی‌های عسل در بازه زمانی شش ماهه در دماهای مختلف

متغیرهای وابسته						متغیرهای مستقل	
شدت رنگ	زاویه رنگ	رنگ L	پلی فنل	pH	HMF	دما (°C)	زمان (ماه)
32/42±4/45 ⁿ	101/58±2/78 ^a	74/04±3/65 ^{c-f}	26/79±2/92 ^{ef}	4/14±0/14 ^{ab}	11/92±10/72 ⁱ		آغاز نمونه‌برداری
37/6±7/23 ^{h-m}	94/4±5/03 ^{b-e}	76/01±2/28 ^{a-d}	30/53±6/62 ^{cd}	4/11±0/11 ^{ab}	12/84±13/08 ^{hi}	4	1
39/81±7/64 ^{f-j}	99/28±3/97 ^{ab}	76/25±2/72 ^{a-d}	25/33±5/34 ^{fgh}	4/12±0/12 ^{ab}	18/57±14/71 ^{ghi}	23	1
40/37±6/67 ^{f-i}	97/11±4/21 ^{abc}	74/65±2/45 ^{a-f}	27/57±5/02 ^{ef}	4/13±0/11 ^{ab}	16/73±13/65 ^{hi}	30	1
50/00±5/24 ^b	91/6±5/73 ^{de}	72/07±3/24 ^f	28/18±2/62 ^{de}	4/12±0/12 ^{a-b}	33/43±20/03 ^{f-i}	37	1
36/2±2/91 ⁱ⁻ⁿ	96/43±4/73 ^{a-d}	77/11±2/27 ^a	23/83±3/14 ^{hi}	4/09±0/09 ^{abc}	12/93±12/39 ^{hi}	4	2
34/99±7/27 ^{lmn}	91/7±4/57 ^{de}	74/04±3/64 ^{c-f}	23/55±2/74 ^{hij}	4/07±0/07 ^{a-d}	16/58±10/44 ^{hi}	23	2
38/54±5/46 ^{g-l}	93/82±5/28 ^{cde}	75/76±3/21 ^{a-d}	23/83±2/74 ^{hi}	4/1±0/09 ^{ab}	17/29±14/25 ^{hi}	30	2
55/96±2/09 ^a	91/15±3/75 ^e	72/44±2/63 ^{ef}	26/88±2/61 ^{ef}	4/08±0/07 ^{a-d}	71/03±19/97 ^e	37	2
35/88±2/71 ^{j-n}	95/4±4/26 ^{b-e}	75/02±2/44 ^{a-e}	21/29±2/34 ^j	4/1±0/13 ^{ab}	14/4±12 ^{hi}	4	3
34/32±5/01 ^{mn}	94/57±3/16 ^{b-e}	75/64±3/14 ^{a-d}	22±2/24 ^{ij}	4/12±0/13 ^{ab}	22/08±15/57 ^{f-i}	23	3
44/96±3/59 ^{cd}	91/8±3/21 ^{de}	76/87±2/48 ^{ab}	21/93±2/56 ^{ij}	4/11±0/1 ^{ab}	28/02±18/56 ^{f-i}	30	3
56/00±4/52 ^a	79/5±5/73 ^f	67/89±4/46 ^g	26/43±2/06 ^{efg}	4/11±0/1 ^{ab}	116±25/28 ^d	37	3
35/55±5/85 ^{k-n}	94/01±3/66 ^{cde}	76/75±2/4 ^{ab}	21/12±2/58 ^j	3/98±0/09 ^d	16/88±13/74 ^{hi}	4	4
39/52±5/62 ^{g-k}	95/07±3/92 ^{b-e}	76/13±1/66 ^{a-d}	22/26±2/49 ^{ij}	4/08±0/3 ^{a-d}	24/25±16/84 ^{f-i}	23	4
43/94±5/45 ^{c-f}	95/19±4/37 ^{b-e}	74/9±2/3 ^{a-e}	22/32±2/18 ^{ij}	3/98±0/09 ^{cd}	34/1±20/78 ^{f-i}	30	4
55/54±4/17 ^a	69/11±6/31 ^g	62/6±3/59 ^h	31/16±2/12 ^c	4/04±0/08 ^{bcd}	245±47/13 ^d	37	4
40/59±5/12 ^{e-h}	93/26±6/76 ^{cde}	74/29±2/99 ^{b-f}	21/15±2/1 ^j	4/15±0/16 ^a	17/62±13/74 ^{hi}	4	5
39/23±5/09 ^{g-k}	97/93±3/75 ^{abc}	76/38±2/54 ^{a-d}	22/06±2/15 ^{ij}	4/17±0/16 ^a	26/01±17/21 ^{f-i}	23	5
44/66±5/97 ^{cde}	98/4±2/79 ^{abc}	74/9±2/52 ^{a-e}	21/99±1/97 ^{ij}	4/18±0/12 ^a	39/34±20/57 ^{fgh}	30	5
48/02±5/07 ^{bc}	65/58±10/18 ^g	51/51±8/8 ⁱ	35/15±2/68 ^b	4/09±0/22 ^{abc}	409/07±65/61 ^c	37	5
36/92±4/52 ^{h-m}	96/58±3/56 ^{a-d}	76/01±2/28 ^{a-d}	21/93±2/77 ^{ij}	4/12±0/13 ^{ab}	16/35±14/1 ^{hi}	4	6
41/88±4/19 ^{d-g}	97/62±2/81 ^{abc}	74/78±2/8 ^{a-f}	23/27±2/5 ^{hij}	4/13±0/13 ^{ab}	27/01±18/55 ^{f-i}	23	6
46/89±3/69 ^{bc}	93/99±5/46 ^{cde}	73/96±2/53 ^{def}	24/21±2/38 ^{ghi}	4/14±0/16 ^{ab}	43/25±22/26 ^f	30	6
44/78±6/71 ^{cd}	34/45±6/31 ^h	49/81±4/44 ⁱ	40/79±3/67 ^a	4/14±0/13 ^{ab}	534/35±86/93 ^a	37	6

بررسی ویژگی‌های رنگی نمونه‌ها مطابق شکل 2 نشان می‌دهد که بالاترین میزان روشنی رنگ با اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0/05$) با سایر نمونه‌ها در سطح پنج درصد در عسل گون مشاهده شد. با افزایش زمان نگهداری روشنایی محصول کاهش یافت به‌نحوی که کمترین روشنایی در نمونه‌های نگهداری شده به مدت ماه ششم مشاهده شد. دمای نگهداری 37 با اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0/05$) نسبت به سایر دماهای نگهداری موجب کاهش شفافیت محصول گردید. بنابراین در میان نمونه‌های مورد بررسی، حداقل روشنایی در عسل آویشن نگهداری شده در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت ماه ششم

pH انواع عسل نگهداری شده در شرایط مختلف، در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری با هم دارند. pH در عسل گون، بیشترین و در عسل کنار کمترین مقدار را به خود اختصاص می‌دهد. تغییرات pH در نمونه‌های عسل تا ماه چهارم روندی کاهشی و پس از آن در ماه‌های پنجم و ششم روندی افزایشی را نشان داد. تغییرات دمای محیط نگهداری، تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0/05$) در pH نمونه‌ها ایجاد ننمود. در مطالعه حاضر میزان pH با افزایش زمان ثابت بود که نتایج این مطالعه منطبق با نتایج Jimenez و همکاران (1994) در این زمینه بود.

مشاهده شد. تأثیر افزایش دما و مدت زمان نگهداری خصوصاً تا ماه چهارم نگهداری بر افزایش شاخص شدت رنگ در عسل در سطح پنج درصد معنی‌دار برآورد شد. در میان چهار نمونه مورد بررسی، عسل کنار بیشترین و عسل مرکبات کمترین میزان شدت رنگ را نشان می‌دهند. زاویه رنگ نمونه‌های نگهداری شده در دماهای مختلف در محدوده 80-100 (زرد متمایل به سبز) با اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد متفاوت ارزیابی شدند. در عسل گون و عسل آویشن به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار زاویه رنگ مشاهده گردید. بر خلاف تأثیر شرایط نگهداری بر شدت رنگ، با افزایش مدت زمان نگهداری، زاویه رنگ کاهش یافت. به نحوی که بیشترین زاویه رنگ در زمان شروع و کمترین آن در ماه ششم نگهداری مشاهده شد. افزایش دمای محیط نگهداری خصوصاً تا 37 درجه سانتی‌گراد نیز تأثیر کاهش دهنده‌ای بر این فاکتور نشان داد. مطابق جداول 3 و 4 حداکثر میزان زاویه رنگ مربوط به عسل آویشن در شروع زمان نگهداری و حداقل میزان آن مربوط به همین عسل پس از شش ماه نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

بنابراین به‌طور کلی مطابق نتایج، افزایش دما و زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0/05$) در افزایش شدت رنگ نمونه‌های عسل، کاهش شاخص روشنایی و زاویه رنگ آن‌ها نشان داد. این تغییرات رنگ به دلیل تجزیه ترکیبات فنولیک، کاراملیزه شدن فروکتوز و انجام واکنش‌های مایلاردی است که حین ذخیره‌سازی اتفاق می‌افتد و مسلماً به شرایط نگهداری، خصوصاً دما و زمان نگهداری وابسته است (Gonzales et al., 1999). در این راستا، Visquert و

همکاران (2014) نیز شاخص روشنی نمونه‌های عسل ذخیره‌سازی شده به مدت 104 روز را کاهشی و تأثیر افزایش دما درجه حرارت بالای نگهداری بر کاهش این شاخص رنگی را معنی‌دار ($P \leq 0/05$) گزارش کردند. البته قابل ذکر است که هرچند تغییرات واضحی در نمونه‌های عسل مرکبات مشاهده شد، شاخص‌های رنگی نمونه‌های عسل گون و دمای ذخیره‌سازی مرتبط نبود. شاخص‌های رنگی در عسل رزماری به تدریج با افزایش زمان ذخیره‌سازی در همه دماها کاهش یافت. هر چه حرارت و زمان نگهداری بیشتر می‌شد شاخص L^* ، شدت رنگ و زاویه رنگ بیشتر کاهش می‌یافت. در چهار دمای ذخیره سازی 25، 30، 35 و 40 درجه سانتی‌گراد، مقادیر شاخص L^* به‌طور قابل توجهی پس از 20 روز ذخیره‌سازی کاهش یافت که همراه با افزایش شدت رنگ و کاهش زاویه رنگ بود که مطالعه حاضر را تأیید می‌کند (Gonzales et al., 1999). نتایج این مطالعه نشان داد که تغییرات رنگ ایجاد شده در 40 درجه سانتی‌گراد بیشتر بود که با نتایج Bulut و Kilic (2009) در مورد ذخیره‌سازی عسل‌های با منشأ فلورال متفاوت بود. Bulut و Kilic ارتباط خطی بین مقادیر روشنایی و زمان ذخیره‌سازی در 40 درجه سانتی‌گراد را یافتند. این تطابق خوب برای هر سه شاخص L^* ، شدت رنگ و زاویه رنگ تقریباً مشابه بود و ارتباط منفی مورد انتظار با شرایط ذخیره‌سازی را نشان داد. هرچند مطابق نتایج مطالعه Visquert و همکاران (2014) نوع عسل تأثیر مهم‌تری بر خواص فیزیکی‌وشیمیایی و پارامترهای رنگ، در مقایسه با زمان و دمای نگهداری دارد.

جدول 6- ضرایب همبستگی پیرسن میان صفات کیفی عسل در طول 6 ماه نگهداری

پلی‌فنل	پلی‌فنل	HMF	رنگ a	رنگ b	رنگ L	شدت رنگ	pH	زاویه رنگ
1	0/738**	1	1	1	1	1	1	1
HMF	0/650**	0/886**	0/014	0/066	0/884**	-0/254**	-0/035	0/140**
رنگ a	0/018	-0/032	-0/771**	-0/010	0/394**	0/031	-0/325**	0/809**
رنگ b	0/655**	-0/893**	0/373**	-0/147**	-0/098	-0/098	-0/651**	-0/958**
رنگ L	0/298**	-0/258**	0/373**	-0/098	-0/885**	-0/885**	-0/885**	-0/885**
شدت رنگ	0/298**	-0/258**	0/373**	-0/098	-0/885**	-0/885**	-0/885**	-0/885**
pH	0/298**	-0/258**	0/373**	-0/098	-0/885**	-0/885**	-0/885**	-0/885**
زاویه رنگ	0/298**	-0/258**	0/373**	-0/098	-0/885**	-0/885**	-0/885**	-0/885**

* و **: به ترتیب معنی‌دار شدن در سطوح آماری 0/01 و 0/05 را نشان می‌دهند (n=336).

رنگ (-0/885) ($R = -0/885$) همبستگی منفی معنی‌دار ($P \leq 0/05$) وجود دارد. همچنین همبستگی معنی‌دار ($P \leq 0/05$) مثبت میان محتوای پلی‌فنل با مختصات a رنگ ($R = 0/65$) و شاخص شدت رنگ ($R = 0/298$) و همبستگی معنی‌دار ($P \leq 0/05$) منفی با مختصات L رنگ ($R = -0/655$)، زاویه رنگ ($R = -0/651$) و pH ($R = -0/258$)

در جدول 6، همبستگی میان صفات کیفی ارزیابی شده در عسل در طی 6 ماه نگهداری نمایش داده شده است. میان محتوای HMF و میزان ترکیبات پلی‌فنل ($R = 0/738$)، مختصات a رنگ ($R = 0/886$) و شاخص شدت رنگ ($R = 0/373$) همبستگی مثبت معنی‌دار ($P \leq 0/05$) و با روشنی رنگ محصول (L^*) ($R = -0/893$) و زاویه

مثبت میان غلظت ترکیبات فنولیک، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رنگ عسل‌های تک‌گلی و چندگلی در مطالعه Beretta و همکاران (2005) و Kaškonienė و همکاران (2009) نیز گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های شیمیایی 4 نوع عسل، می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که افزایش حرارت‌دهی و مدت زمان نگهداری، باعث قهوه‌ای‌تر شدن عسل می‌شود. از طرف دیگر با افزایش حرارت‌دهی و مدت زمان نگهداری، محتوای HMF نامطلوب افزایش قابل توجهی می‌یابد. شرایط نگهداری و نوع عسل (ترکیبات اولیه) تأثیر قابل ملاحظه‌ای در ویژگی‌های کیفی عسل دارد. بهترین شرایط نگهداری از حیث کنترل افزایش فاکتور HMF دمای یخچال می‌باشد. با افزایش دمای نگهداری تا ماه سوم، محتوای ترکیبات فنولیک کاهش یافت و پس از آن روند افزایشی مشاهده شد و با افزایش دما، افزایش پلی‌فل‌ها مشهودتر بود. این مشاهده نتیجه ایجاد ترکیبات ثانویه ناشی از فرآیند قهوه‌ای شدن در محصول است. بنابراین، شرایط نگهداری در مورد انواع عسل با خصوصیات اولیه مختلف، متفاوت است و به‌دست آوردن بهترین روش نگهداری انواع عسل نیازمند پژوهش‌های بیشتر در این راستا است.

محصول مشاهده شد. pH محصول نیز با محتوای پلی‌فل ($R = -0/258$) و مختصات a رنگ محصول ($R = -0/147$) همبستگی منفی معنی‌داری ($P \leq 0/05$) را نشان داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت عسل‌هایی که تمایل بیشتری به قرمزی رنگ و روشنی کمتری در آن‌ها مشاهده می‌شود، محتوای پلی‌فل بالاتری دارند و شرکت این دسته از ترکیبات در واکنش‌های قهوه‌ای شدن دلیل اصلی محتوای بالاتر HMF در این نمونه‌هاست (Miotto, 2011). در مطالعه Islam و همکاران (2012)، Saxena و همکاران (2010)، Bertoncelj و همکاران (2007) و Alvarez-Suarez و همکاران (2010) نیز همبستگی معنی‌داری ($P \leq 0/05$) میان محتوای پلی‌فل‌ها و رنگ محصول گزارش شده است. در واقع پیگمان‌های رنگی می‌توانند نشانگرهای مناسبی جهت برآورد میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل باشند. در مطالعه Saxena و همکاران (2010) و Bertoncelj و همکاران (2007) نیز همبستگی معنی‌داری ($P \leq 0/05$) میان شدت رنگ و محتوای ترکیبات فنولیک ($R = 0/9$) مشاهده شد. Turkmen و همکاران (2006) نیز میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را با شدت واکنش‌های قهوه‌ای شدن در نمونه‌های عسل مرتبط دانستند. مطالعه عسل‌های تک‌گلی از منطقه شمال شرق پرتقال توسط Ferreira و همکاران (2009) نیز نشان داد که عسل‌های تیره محتوای فنولیک غنی‌تر و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارند. ارتباط

منابع

- سیدی، م. و کفیلی، غ. 1390. انقلاب عسل. نشر زاینده رود، 28-30.
- فخری نژاد، ف.، علیزاده داخل، ا.، ذبیحی، ف. 1392. بررسی آزمایشگاهی اثر عملیات حرارتی بر غلظت هیدروکسی متیل فورفورال عسل. اولین کنفرانس ملی فناوری‌های نوین در شیمی و مهندسی شیمی، تهران.
- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. 1392. عسل - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره 92، تجدید نظر ششم.
- عبادی، ر. و احمدی، ع. 1383. پرورش زنبور عسل. انتشارات اردکان.
- نعمتی، ف.، هنرور، م.، تقوی زاد، ر.، عزت‌پناه، ح.، سیف‌هاشمی، س.، حمصی، ا. 1389. بررسی نقش فرآیند تصفیه بر برخی ویژگی‌های کیفی عسل. مجله علوم غذایی و تغذیه، 46-57: 8(4).
- Al-Mamary, M., Al-Meer, A., & Al-Habori, M. 2002. Antioxidant activities and totalphenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22(9):1041-1047.
- Alvarez-Suarez, J., González-Paramás, A., Santos-Buelga, C., Battino, M. 2010. Antioxidant characterization of native monofloral Cuban honeys. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 58(17):9817-9824.
- Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., Battino, M. 2010. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(1):15-23.
- Antony, S., Rieck, J., Dawson, P. 2000. Effect of dry honey on oxidation in turkey breast meat. *Poultry Science*, 79(12):1846-1850.
- Bakan, A. 2002. Balda kristallenme sorunu. *Gıda*, 86-87.
- Bath, P., Singh, N. 2000. A research note chemical changes in *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey during storage. *Journal of Food Quality*, 23(4):443-451.
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Facino, R.M. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533(2):185-191.
- Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M., & Golob, T. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105(2):822-828.

- Bulut, L., Kilic, M. 2009. Kinetics of hydroxymethylfurfural accumulation and color change in honey during storage in relation to moisture content. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(1):22-32.
- Burdurlu, H.S., Karadeniz, F. 2003. Effect of storage on nonenzymatic Browning of apple juice concentrates. *Food Chemistry*, 80(1):91-97.
- Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M., González-Viñas, M., Fuente, E., Pérez-Coello, M.S. 2008. Influence of storage conditions on chemical composition and sensory properties of citrus honey. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 56(6):1999-2006.
- Chen, L., Mehta, A., Berenbaum, M., Zangerl, A., Eng-eseth, N. 2000. Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 48(10):4997-5000.
- Crane, E. 1975. Honey: A Comprehensive Survey. International Bee Research Association, Heinemann, London.
- Crane, E. 1979. Honey: A comprehensive survey. Heinemann, *International Bee Research Association (IBRA)*, London.
- Crane, E. 1990. in: Bees and Beekeeping. Science, Practice and World Resources, *Heinemann*, Oxford, 13:400.
- Escriche, I., Kadar, M., Domenech, E., & Gil-Sanchez, L. 2012. A Potentiometric Electronic Tongue for the Discrimination of Honey According to the Botanical Origin.
- Ferreira, I., Aires, E., Barreira, J., & Estevinho, L. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples. Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114(4):1438-1443.
- Gonzales, A., Burin, L., Buera, M.P. 1999. Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. *Food Research International*, 32(3):185-191.
- Gonzalez-Miret, M., Terrab, A., Herranz, D., Heredia, F.J. 2005. Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7):2574-2580.
- Hutchings, J. 1999. Food Color and Appearance. Gaithersburg, Maryland.
- Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S.A & Gan, S.H. 2012. Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. *BMC Complementary and Alternative Medicine* The official journal of the International Society for Complementary *Medicine Research (ISCMR)*, 12:177.
- Jiménez, M., Mateo, J., Huerta, T., Mateo, R. 1994. Influence of the storage conditions on some physicochemical and mycological parameters of honey J. Sci. *Food Agriculture*, 64(1):67-74.
- Kaškonienė, V., Maruška, A., & Kornyšova, O. 2009. Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey. *Cheminė Technologija*, 52(3):74-80.
- Khalil, M.I, Sulaiman, S., Gan, S. 2010. High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food Chem Toxicol*, 48(8-9):2388-2392.
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoglu, S., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100(2):526-534
- Labuza, T., Baisier, W.M. 1992. The kinetics of nonenzymatic browning. In *Physical Chemistry of Foods*, 595-649.
- Lichtenberg-Kraag & Bright. 2012. Saccharose degradation over time in stored honey. Influence of time, temperature, enzyme activity and botanical origin. *Journal of food and nutrition research*, 51(4):217-224.
- Meda, A., Lamien, C., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3):571-577.
- Miotto, D. 2011. Elucidation of the components involved in the antioxidant activity of honey, Faculty of Biological Sciences, Brock University.
- Molan, P., Betts, J. 2004. Clinical usage of honey as a wound dressing: an update. *Journal of Wound Care*, 13(9):353-356.
- Nishi, Y., Miyakawa, Y., Kato, K. 1989. Chromosome aberrations induced by pyrolysis products of carbohydrates in Chinese hamster V79 cells. *Mutation Research*, 227(2):117-123.
- Ozcan, M., Arslan, D., & Ceylan, D. 2006. Effect of inverted sucrose on some properties of honey. *Food Chemistry*, 99(1):24-29.
- Sabarez, H., Price, W., Back, P., Woolf, 1997. Modelling the kinetic of drying of Agen plums (*Prunus domestica*). *Food Chemistry*, 60(3):371-382.
- Sancho, M., Muniategui, S., Sanchez, P., Huidrobo, J.F., Simal, J., & Miele del Pais Vasco, X. 1991. Evaluación de los distintos tipos de mieles y su alcalinidad en función de la conductividad eléctrica en mieles. *Anal Bromatol*, 43:311-324.
- Saxena, S., Gautam, S., Sharma, A. 2010. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118(2):391-397.
- Serrano, S., Villarejo, M., Espejo, R., Jodral, M. 2004. Chemical and physical parameters of Andalusian honey classification of Citrus and Eucalyptus honeys by discriminant analysis. *Food Chemistry*, 87(4):619-625.

- Shun, Y., Wen, Y., Yong, C., Jian, G. 2003. Two Benzyl Dihydroflavones from *Phellinus Igniarius*. *Chinese Chemical Letters*, 14(8):810-13.
- Singh, N., & Bath, P. 1997. Quality evaluation of different types of Indian honey. *Food Chemistry*, 58(1-2):129-133.
- Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela- Raventos, R. 1999. Analysis of total phenols and oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178.
- Spano, N., Casula, L., Panzanelli, A.I., Pilo, M.C., Piu, P., Scanu, R., Tapparo, A., Sanna, G. 2006. An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey The case of strawberry tree honey. *Talanta*, 68(4):1390-1395.
- Talpay, B & Dtsch. 1988. *Lebensm.-Rundsch*, 84(2):41. The National Honey Board. 2003. Honey – Health and therapeutic qualities.
- Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E., & Velioglu, Y. 2006. Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry*, 95(4):653-657.
- Visquert, M., Vargas, M., Escriche, I. 2014. Effect of postharvest storage conditions on the colour and freshness parameters of raw honey. *International Journal of Food Science Technology*, 49(1):181-187.
- Wang, X.H., Gheldof, N., Engeseth, N.J. 2004. Effect of processing and storage on antioxidant capacity of honey. *Journal of Food Science*, 69(2): 96-101.
- White & Jonathan, W. 1975. Composition of honey. In: Crane, E. (Ed), *Honey, A Comprehensive Survey*, Heinemann, UK, 5:157-206.
- White, J. 1962. Composition of American honeys. *Journal of Food Science*, 26:60-66.
- White, J. 1978. Honey, in: *Advances in Food Research*. Academic Press, New York

The effect of type (Astragalus, Ziziphus, Citrus and Thyme), and storage conditions on the most important qualitative characteristic of honey

F. khodaiyan¹, H. Abbasi^{2*}

Received: 2018.10.14

Accepted: 2019.06.11

Introduction: Honey is a bee product with appropriate organoleptic characteristics and high nutritional value. Vegetative source, climate conditions, time of nectar collecting, bee species, and also storage condition of product are effective factors on its quality. During the process and storage stages, chemical reactions such as maillard change the quality and nutritional characteristics of the product. The effectiveness of these reactions depends on various parameters such as primary component's nature, water activity and pH of product as well as the product storage conditions. Different factors such as, carbohydrate content, enzyme activity, hydroxymethylfurfural (HMF) are introduced as criteria in evaluating qualitative characteristics of honey. HMF is one of the most important factors in this group. It is a consequence of thermal process on foods containing high quantity of fructose and glucose. Therefore, it is considered as an important index on heating and shelf life of this product. In the first step of the present research, qualitative characteristics of four usual Iranian honeys were evaluated. Then, in order to study the effect of storage condition, the quality changes of products at different temperatures and times of storage were investigated.

Materials and methods: In the first stage of the present research, qualitative characteristic (fructose/glucose ratio, sucrose, polyphenol content, hydroxymethylfurfural, moisture, free acidity, lactic acid, total acidity, pH, color, diastase and electrical conductivity) of four Iranian honey (astragalus, ziziphus, citrus and thyme) collected in random sampling were measured. Then, effect of storage temperature (4, 23, 30 and 37°C) on changes of important qualitative characteristic of product (hydroxymethylfurfural content, polyphenol content, pH, color characteristic) were evaluated monthly for six months.

Results and discussion: According to results, qualitative characteristics of samples were significantly different since the beginning of storage ($p \leq 0.05$). Moisture content of samples varied from 14.5 to 16.5%. PH was found to be 4.38 to 4.94, and total acid content ranged from 6.92 to 16.32%. The highest sucrose content was observed in ziziphus honey and the highest fructose-glucose ratio and pH were observed in astragalus honey. Thyme honey contains the highest diastase activity, acidic compounds, and the lowest amount of moisture and pH and ziziphus honey had the highest amount of acid lactic and electrical conductivity (142/0 mmol/cm). The amount of HMF in ziziphus honey was higher than other kind of samples (28.29 mg/ kg), and the content of these component were lower than 5 mg/kg in astragalus and citrus honey. All of the four samples were in permissible range according to maximum acceptable HMF content based on both Iranian national standard and honey international commission (40 mg/kg). In appearance characteristic, L* (brightness) of thyme and citrus honey were more than others and the highest greenness was observed in thyme honey and the highest yellowness were observed in astragalus and ziziphus samples. In the present study, the polyphenol content of samples was 23.33-39.33 (mg gallic acid in 100 g of sample) and thyme honey contained the highest polyphenol content. Diversity in floral is one of the main reason for differences in the qualitative characteristic of samples. Changes in mineral content, phenolic components, and floral origin were considered as the main effective factors in color changes of honey types. Storage condition and honey type had significant effects on qualitative characteristics of product. Increasing time and storage temperature reduced brightness and hue angle, and increased chroma index in all kind of honey. By increasing the temperature and storage time, undesirable HMF content of samples were increased. Among the studied conditions, the best storage temperature in control of HMF content of product was 4 °C. Increasing storage temperature and time decreased the phenolic compounds of samples until the third month, and after that it was increased. In this regard, the effect of higher temperature on increasing polyphenol contents of product was more obvious. This observation is a consequence of secondary compounds formations from browning process in the product. Evaluating correlation among different parameters showed that, there were a positive significant correlation between HMF content with polyphenol compounds ($r = 0.738$), a^* ($r = 0.8868$) and chroma index ($r = 0.373$) ($p < 0.05$), and there were a negative significant correlation with brightness of appearance ($r = -0.853$) and hue angle ($r = -0.858$) of product at a level of 0.05. Also there were observed positive and significant correlation among polyphenol content of product with a^* ($r = 0.65$) and chroma index ($r = 0.298$) and also negative and significant

1 and 2. MSc Student and Assistant professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Natural Resources, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

(* - Corresponding Author Email: H.Abbasi@Khuisf.ac.ir)

correlation with brightness ($r = -0.655$), hue angle ($r = -0.651$) and ph ($r = -0.258$). Therefore, honeys with more redness and less brightness usually contain higher polyphenol which their participation in Millard reaction is the main reason for higher content of HMF in these samples. Therefore, determining suitable condition and storage time of honey according to their different primary characteristic should be considered in order to protect qualitative characteristic of product.

Keywords: Polyphenol, Color Parameters, Time and Temperature of Storage, Qualitative Characteristic, Hydroxymethylfurfural.



اثرات هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) بر برخی خصوصیات کیفی و پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکای ریزپوشانی شده

سید حسن جلیلی¹ - رضا فرهوش^{2*} - آرش کوچکی² - عباسعلی مطلبی³

تاریخ دریافت: 1397/03/08

تاریخ پذیرش: 1397/10/25

چکیده

اثرات غلظت‌های 1 تا 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای بر برخی خصوصیات کیفی و پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکای ریزپوشانی شده با مالتودکسترین و نشاسته اصلاح‌شده شیمیایی (Hi-Cap® 100) در دو pH 6/8 و 3/4 طی 28 روز نگهداری در دمای 45 درجه سلسیوس در تاریکی، مقایسه گردیده است. روغن ماهی با استفاده از کروماتوگرافی ستونی چند لایه (آلومینا-سیلیکاژل) پالایش و ترکیب اسیدهای چرب آن تعیین گردید. در تصاویر میکروسکوپ نوری بهم‌پیوستن قطرات و ایجاد خوشه در میکروامولسیون‌ها مشاهده نشد. اثرات pH بر میانگین اندازه قطرات و کارایی ریزپوشانی قابل ملاحظه نبود ($p > 0.05$) ولی بر میزان روغن آزاد و پایداری امولسیون در غلظت‌های بیشتر و مساوی 2 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر معنی‌دار بود ($p < 0.05$). پپتیدهای موجود در هیدرولیز به‌طور مؤثری سرعت اکسایش روغن کیلکا در سامانه مدل را کند نمودند. روند توسعه اکسیداسیون اولیه، وابسته به غلظت محلول هیدرولیزی و برای تیمار شاهد و تیمارهای 1 تا 4 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌صورت غیرخطی بود. این روند برای تیمار 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌صورت خطی، با شیب ملایم، و در pHهای مختلف به‌طور مشابه، تا روز 28 ادامه داشت. یافته‌های تحقیق زمینه استفاده از هیدرولیز پوست کپور نقره‌ای به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی برای تولید میکروامولسیون‌های ریزپوشانی شده پایدار روغن ماهی، جهت غنی‌سازی انواع غذاها با دامنه گسترده pH را فراهم می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: روغن ماهی کیلکا، هیدرولیز پوست کپور نقره‌ای، آلکالاز، ریزپوشانی، پایداری اکسایشی.

مقدمه

است (GOED, 2018). وجود مقادیر قابل ملاحظه اسیدهای چرب ضروری منحصربفرد در روغن ماهی این امکان را فراهم می‌سازد که از آن در تولید غذاهای فراسودمند، به‌منظور تأمین نیازهای تغذیه‌ای و در عین حال اثرات سودمند بر سلامت مصرف‌کنندگان، استفاده نمود (Kolanowski et al., 2006). چالش اصلی در به‌کارگیری روغن ماهی جهت مصرف مستقیم و یا تولید غذاهای فراسودمند، ناپایداری بسیار بالای اسیدهای چرب چندغیراشباع بلند زنجیر آن در برابر فساد اکسایشی و تولید ترکیبات مضر دارای بو و طعم نامطلوب می‌باشد. بنابراین نیاز ضروری به حفظ کیفیت و پایداری این محصول ارزشمند حین فرآیند، حمل‌ونقل و نگهداری وجود دارد (Carneiro et al., 2012). در حال حاضر برخی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی نظیر بوتیلید هیدروکسی تولوئن (BHT)، بوتیلید هیدروکسی آتیزول (BHA) و ترت-بوتیل هیدروکوتینون (TBHQ) به‌عنوان مهارکننده

افزایش روزافزون تقاضای جهانی برای غذاهای مغذی و فراسودمند، محققین صنعت غذا را برآن داشته که فعالیت‌های تحقیقاتی خویش را در همین راستا متمرکز نمایند. روغن ماهی، به‌ویژه ماهیان پشت آبی دریایی مانند ساردین و کیلکا، غنی‌ترین و مناسب‌ترین منبع اسیدهای چرب چندغیراشباع بلند زنجیر امگا-3 می‌باشد. این اسیدهای چرب شامل اسید آلفا لینولنیک (ALA C18:3)، و متابولیت‌های زنجیره بلندتر آن شامل اسیدهای ایکوزاپنتانویک (EPA C20:5) و دوکوزاهگزانوئیک (DHA C22:6) هستند که به‌طور اختصاصی در آبزیان یافت می‌شوند (Kolanowski et al., 2006). اسیدهای چرب امگا-3 نه تنها برای بدن ضروری هستند بلکه اثرات سلامت‌بخش و درمانی آن‌ها، به‌ویژه در پیشگیری بیماری‌های قلبی-عروقی و بهبود عملکرد سامانه اعصاب مرکزی، طی تحقیقات زیادی به اثبات رسیده

رادیكال‌های آزاد در سامانه‌های بیولوژیک و غذایی به کار می‌روند، اما استفاده از این نوع ترکیبات، به دلیل تهدیدات سلامت مصرف‌کنندگان با محدودیت‌ها و مشکلات جدی مواجه شده است (Cai et al., 2015). یافتن جایگزین‌های طبیعی جدید با فعالیت و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مطلوب، نه یک انتخاب خوب، بلکه گزینه‌ای اجتناب‌ناپذیر خواهد بود. ماهی کپور نقره‌ای با نام علمی *Hypophthalmichthys molitrix* به‌طور گسترده در مناطق مختلف ایران پرورش داده می‌شود و بیش از 50 درصد ماهیان گرمابی پرورشی کشور (بیش از صد هزار تن/سال) را تشکیل می‌دهد (سامانه سازمان شیلات ایران، 1397). در دهه اخیر با احداث کارخانجات جدید، با استفاده از دستگاه‌های استخوان‌گیر بخشی از این ماهیان به گوشت چرخ‌شده¹ و فرآورده‌های فرموله آماده طبخ نظیر ناگت تبدیل می‌گردند. توسعه صنایع فرآوری، تولید فرآورده‌های جانبی را به دنبال داشته که بخش قابل ملاحظه‌ای از اندام‌های آبیان را شامل می‌شود. عدم استفاده و یا استفاده ناکارآمد این مواد، علاوه بر هدررفت سرمایه‌ها و منابع غنی تغذیه‌ای و فراسودمند، مشکلات زیست‌محیطی و بهداشتی را نیز در پی دارد. پوست آبیان و از جمله کپور نقره‌ای، منبع غنی از پروتئین‌های ارزشمند بافت همبند می‌باشد که به‌عنوان پسماند فرآوری و با بهایی بسیار ارزان در دسترس است. مجموع پوست و استخوان باقیمانده پس از گوشتگیری با دستگاه استخوانگیر² برای ماهی‌های کپور نقره‌ای با میانگین وزن یک کیلوگرم، حدود 10 درصد می‌باشد. پوست شستشو و تمیز شده حدود 3/5 درصد از وزن کل لاشه را شامل می‌شود (اطلاعات منتشر نشده شخصی). بدین ترتیب سالیانه مقدار قابل توجهی از پوست این ماهی دور ریز شده و یا همراه سایر فرآورده‌های جانبی، صرف تولید آرد ماهی می‌گردد.

هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های موجود در پسماندهای فرآوری و فرآورده‌های جانبی، در صنایع غذایی برای تولید مواد با خواص عملکردی تقویت‌شده به کار گرفته می‌شود (Valencia et al., 2014). هیدرولیزهای پروتئینی حاوی پپتیدهای زیست فعال با 2 تا 20 اسیدآمینه هستند که به دلیل اثرات مثبت بر سلامت و عملکردهای بسیار متنوع و از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مورد توجه روز افزون قرار گرفته‌اند (Chi et al., 2015). ترکیب و توالی اسیدهای آمینه، تعیین‌کننده خواص عملکردی پپتیدها می‌باشد که به منشاء پروتئین، روش و شرایط آماده‌سازی، فرآوری و توزیع وزن مولکولی هیدرولیزهای حاصل بستگی دارد (Gómez-Guillén et al., 2011). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی برای هیدرولیزهای پروتئینی مختلف با منشاء آبیان، شامل پوست ماهی هوکی (Mendis et al., 2005)، پوست ماهی تون (Gómez-Guillén et al., 2010)، پوست تیلاپیا (Zhang et al., 2012)، پسماندهای فرآوری کپور نقره‌ای (Zhong

et al., 2011)، تخم کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Chalamaiah et al., 2015)، پوست آلاسکا پولاک (*Theragra chalcogramma*) (Li et al., 2017)، کولژن پوست کپور نقره‌ای (Zhang et al., 2017) و پوست کپور علفخوار (Cai et al., 2015) گزارش شده است. نوع آنزیم و شرایط هیدرولیز آنزیمی شامل نسبت آنزیم/سوبسترا، نسبت ماده/حلال، دما، زمان و pH می‌توانند بر طول زنجیره پپتیدها و خواص عملکردی هیدرولیزهای پروتئینی موثر باشند (Chi et al., 2014). اختصاصی بودن پروتئازهای مورد استفاده برای هیدرولیز می‌تواند تعیین‌کننده اندازه و توالی پپتیدها و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها باشد. آلکالاز به دلیل اندوپپتیداز بودن با طیف گسترده خصوصیات، پایداری در برابر تغییرات pH، و قیمت نسبتاً پائین، کاندید مناسبی برای تولید صنعتی هیدرولیزهای پروتئینی معرفی شده است (Doucet et al., 2003). در مطالعات متعددی از آلکالاز به‌عنوان بهترین پروتئاز برای آزادسازی پپتیدهای با قابلیت بازدارندگی اکسایش روغن‌ها در سامانه‌های مختلف، یاد شده است (Alemán et al., 2011; Mendis et al., 2005; Dong et al., 2008; Yi et al., 2017 and Chi et al., 2015).

مکانیزم‌های اکسایش لیپیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در سامانه‌های چندفازی (ناهمگون) مواد غذایی، بسیار پیچیده است و عوامل مختلفی می‌توانند بر سرعت و میزان اکسیداسیون و تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها در اینگونه سامانه‌ها اثرگذار باشند. به دلیل چنین پیچیدگی‌هایی پیش بینی رفتار و کارایی آنتی‌اکسیدان‌ها در سامانه‌های مختلف مواد غذایی امری دشوار می‌باشد و از این‌رو انتخاب آنتی‌اکسیدان مناسب و کارآمد، اغلب با آزمون و خطا صورت می‌گیرد (Jacobsen et al., 2008). به‌منظور ارزیابی صحیح و دقیق توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها در مواد غذایی بایستی از مدل‌هایی استفاده گردد که از حیث شیمیایی، فیزیکی و شرایط محیطی مشابه محصولات غذایی مورد نظر باشند. در تحقیق حاضر اثرات پپتیدهای حاصل از هیدرولیز پوست کپور نقره‌ای با آنزیم آلکالاز، بر پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکای ریزپوشانی شده در سامانه مدل با pHهای 6/8 و 3/4 مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

آنزیم آلکالاز از باکتری *Bacillus licheniformis* (2.4 L) و مالتودکسترین (DE= 4.0-7.0)، از شرکت سیگما (Sigma Chemical Co.; St. Louis, MO, USA)، سیلیکا ژل (grade 60، 230-400 mesh، 60 Å^o، آلومینا (Aluminum oxide 60) و اسید سیتریک خوراکی از شرکت Merck کشور آلمان خریداری گردیدند. نشاسته اصلاح‌شده شیمیایی مشتق‌شده از ذرت مومی (n-octenyl

پس از بسته‌بندی در کیسه‌های نایلونی تا زمان تهیه میکرومولسیون‌ها در فریزر نگهداری شد.

اندازه‌گیری ترکیبات تقریبی و pH

میزان رطوبت نمونه‌ها به روش قرار دادن در دمای 105 درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت، تعیین گردید. مقدار خاکستر با سوزاندن نمونه‌ها در کوره الکتریکی با دمای 550 درجه سلسیوس تا دستیابی به خاکستر سفید رنگ، محاسبه گردید. میزان پروتئین خام ($N \times 6.25$) نمونه‌ها با استفاده از دستگاه هضم و تقطیر (Behr, S4, Germany) به روش میکروکجلدال به دست آمد. مقدار روغن نمونه‌ها نیز به روش وزن سنجی، با استخراج روغن نمونه در دستگاه سوکسله با حلال پترولئوم‌تر تعیین گردید (AOAC, 2000). اندازه‌گیری pH به صورت مستقیم درون محلول با استفاده از دستگاه pH متر (WTW, pH 7110, Germany) انجام شد.

پالایش روغن ماهی کیلکا

جهت پالایش و حذف ناخالصی‌های روغن، از کروماتوگرافی ستونی چندلایه (آلومینا-سیلیکاژل)، طبق روش و شرایط گزارش شده توسط پژوهان مهر (1395)، با اصلاحات جزئی، استفاده گردید. برای این منظور ابتدا آلومینا و سیلیکاژل به مدت 3 ساعت به ترتیب در دماهای 200 و 160 درجه سلسیوس فعال شدند. انتهای ستون شیشه‌ای کروماتوگرافی با قطر داخلی 3 سانتی‌متر و طول 60 سانتی‌متر به ارلن بوخنر متصل به پمپ خلأ وصل شد. پس از پر کردن یکنواخت ستون به ترتیب با 60 گرم آلومینا و 80 گرم سیلیکاژل، 100 گرم روغن خام ماهی کیلکا از ستون عبور داده شد. بالای ستون بادکنک حاوی گاز ازت متصل گردید و اطراف آن و همچنین ارلن بوخنر با ورقه آلومینیومی پوشانیده شد. با قرار دادن ارلن در ظرف حاوی یخ خرد شده، روغن حین استحصال تا دمای ذوب یخ خنک گردید. روغن خروجی از ستون، بلافاصله درون لوله‌های درپوش‌دار، با دمش گاز ازت بسته‌بندی و در تاریکی و دمای 18- درجه سلسیوس نگهداری گردید. ساختار شیمیایی و اسید چربی روغن تخلیص‌شده ماهی کیلکا در جدول 1 نشان داده شده است.

تعیین ترکیب اسیدهای چرب روغن

ترکیب اسید چربی نمونه‌های روغن کیلکا به وسیله کروماتوگرافی گازی تعیین و براساس درصد نسبی گزارش شد. استرهای متیل اسیدهای چرب با اختلاط روغن و هگزان (0/3 گرم در 7 میلی‌لیتر) با 7 میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی دو نرمال در دمای 50 درجه سلسیوس به مدت 15 دقیقه تهیه شدند. استر اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه HP-5890 (Hewlett-Packard, SC, USA) مجهز به ستون‌های مویینه CP-FIL88 شیشه‌ای سیلیکا، 60 متر طول در 0/22

succinic anhydride یا OSAN) (Hi-Cap® 100) با حداکثر رطوبت 5 درصد از شرکت National Starch انگلستان تهیه گردید. سایر مواد و محلول‌های مورد استفاده با درجه آزمایشگاهی بودند. ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) تازه صید شده، با اوزان 1295-930 گرم از بازار ماهی شهرستان رشت، استان گیلان خریداری گردید. ماهی‌ها به صورت یخ‌گذاری شده در یخدان عایق منتقل گردید. ابتدا فلس و سپس پوست هر ماهی به صورت دستی جدا شد. پوست‌ها با آب قابل شرب خنک و با استفاده از بُرس تا جداسازی کامل گوشت‌های باقی مانده، شستشو و تمیز گردیدند. سپس به قطعات حدود 5 سانتی متر برش داده شده و تا زمان پیش‌تیمار در فریزر (18- درجه سلسیوس) نگهداری شدند.

پیش‌تیمار پوست

پوست ماهی کپور نقره‌ای قبل از هیدرولیز با روش عمل شده توسط Ketnawa و همکاران (2017) با اندکی اصلاح، پیش‌تیمار گردید. خیساندن اولیه با استفاده از NaOH (0/1 مولار) با نسبت پوست به قلیا 1 به 8 در دمای 4 ± 1 درجه سلسیوس، به مدت سه ساعت انجام شد. هر 10 دقیقه محلول به صورت ملایم همزده شد. سپس پوست قلیایی شده با آب شرب جاری چندین مرتبه آبکشی، تا pH آب به کمتر از 7/5 برسد. پس از آن خیساندن در اسید استیک (0/1 مولار) با نسبت اسید به پوست 1 به 8 در دمای محیط به مدت 2 ساعت انجام شد. پوست تیمار شده با اسید تا خنثی شدن آب خروجی، کاملاً شستشو گردید. پوست شفاف‌شده متورم، در خشک‌کن انجمادی (OPERON, OPR-FDB-5503, Korea) تا رطوبت کمتر از 10 درصد خشک، پس از بسته‌بندی در کیسه‌های نایلونی با دوخت حرارتی، تا انجام مراحل بعدی در یخچال نگهداری گردید.

هیدرولیز آنزیمی پوست

هیدرولیز آنزیمی پوست کپور نقره‌ای با اندکی اصلاحات، طبق روش گزارش شده توسط قنبری و همکاران (2015) انجام شد. پوست پیش‌تیمار شده در آب مقطر با نسبت وزنی 1 به 20 (وزنی/ حجمی) در طول شب و در یخچال خیسانده شد. سپس توسط همزن دستی تیغه‌ای (گوشت‌کوب برقی، Philips) کاملاً همگن گردید. pH محلول با چند قطره هیدروکسید سدیم (0/1 نرمال) حدود 7/0 تنظیم، دمای آن به 50 درجه سلسیوس رسانده شد. پروتئولیز با آنزیم آلکالاز (1%) به مدت 4 ساعت با همزدن ملایم و پیوسته صورت گرفت. پس از این مدت، با قرار دادن نمونه در حمام آب‌جوش به مدت 15 دقیقه، آنزیم غیرفعال و واکنش هیدرولیز متوقف گردید. پس از سانتریفوژ نمودن در 13000 g برای 20 دقیقه، مایع شفاف (حاوی پپتیدهای حاصل از هیدرولیز) جمع‌آوری و در خشک‌کن انجمادی به پودر تبدیل گردید. پودر حاصل

میلی متر قطر داخلی، 0/2 میکرومتر ضخامت فیلم و شناساگر یونی شعله‌ای شناسایی شد. گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل با سرعت جریان 0/75 میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. آون در دمای 198 درجه

جدول 1- ترکیب اسیدهای چرب روغن تخلیص شده کیلکای دریای خزر با استفاده از کروماتوگرافی ستونی چند لایه‌ای (آلومینا- سیلیکاژل)

روغن تخلیص شده ماهی کیلکا	اسید چرب
6/35 ± 0/09	میریستیک، C14:0
17/16 ± 0/21	پالمیتیک، C16:0
12/47 ± 0/14	پالمیتوئیک، C16:1 ω-7
1/54 ± 0/07	مارگاریک، C17:0
3/07 ± 0/03	استئاریک، C18:0
25/56 ± 0/35	اولئیک، C18:1 ω-9
7/61 ± 0/09	لینولئیک، C18:2 ω-6
1/29 ± 0/04	آلفا لینولئیک، C18:3 ω-3
1/11 ± 0/03	آراشیدیک، C20:0
0/25 ± 0/02	آراشیدونیک، C20:4 ω-6
9/83 ± 0/41	ایکوزاپنتانوئیک (EPA)، C20:5 ω-3
7/96 ± 0/15	دوکوزاهگزانوئیک (DHA)، C22:6 ω-3
5/80	سایر اسیدهای چرب

(1) میانگین ± انحراف معیار (سه تکرار)

آبی، نسبت تعیین شده روغن پالایش شده کیلکا به آرامی و حین همزدن به آن‌ها افزوده گردید. امولسیون اولیه ابتدا با استفاده از اولتراتوراکس (IKA، T25 digital، آمریکا) با 15000 دور در دقیقه به مدت 2 دقیقه و سپس توسط هموژنایزر پیستونی مدار بسته (HSTO، KL1,2، آلمان)، تحت فشار 350 بار و 5 ثبوت عبور، به میکروامولسیون تبدیل گردید. نمونه‌ها درون بطری‌های تیره درپوش‌دار استریل بسته‌بندی گردید.

اندازه‌گیری روغن سطحی، تعیین کارایی ریزپوشانی و روغن آزاد

مقدار 50 میلی لیتر از امولسیون تهیه شده را به 75 میلی لیتر حلال هگزان اضافه و به مدت 15 دقیقه در دمای اتاق با دور کند همزده تا روغن سطحی استخراج شود. مخلوط درون قیف جداکننده ریخته شده و لایه فوقانی (حلال) جدا گردید. حلال جدا شده را به کمک تبخیرکننده دوار متصل به خلاء تبخیر نموده، با توزین روغن باقی مانده در ظرف، روغن سطحی تعیین شد. میزان کارایی ریزپوشانی (MEE)¹ با استفاده از معادله (1) محاسبه گردید:

$$(1) \quad 100 \times \text{روغن کل} / (\text{روغن سطحی} - \text{روغن کل}) = \text{MEE} (\%)$$

روش ریزپوشانی و تهیه تیمارهای مورد بررسی

براساس روش گزارش شده توسط Carneiro و همکاران (2012) با بخشی اصلاحات، امولسیون با 31/25 درصد ماده خشک تهیه گردید. 25 درصد مواد دیواره‌ای (نسبت‌های مساوی مالتودکسترین و نشاسته اصلاح‌شده)، روغن ماهی 25 درصد مواد دیواره‌ای و هیدرولیز پوست کپور نقره‌ای (جهت تهیه تیمارهای 1، 2، 3، 4 و 5 میلی گرم بر میلی لیتر روغن ماهی) مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا بافرها با دو pH تنظیم‌شده 6/8 و 3/4 به عنوان فاز آبی، تهیه گردید. تهیه بافرها با استفاده از اسید سیتریک (0/1 مولار) و دی‌سدیم فسفات (0/2 مولار) طبق روش عمل شده توسط طاهریان و همکاران (2011) انجام شد. تنظیم pH نهایی با استفاده از اسید کلریدرک و هیدروکسید سدیم 0/1 نرمال صورت گرفت. نسبت‌های تعیین‌شده مواد دیواره‌ای و هیدرولیز پروتئینی، به همراه سدیم آزید به میزان 0/02 درصد، توزین و به آهستگی به حجم معین بافر (25 درجه سلسیوس) در حال همزدن، اضافه شده و به مدت 20 دقیقه توسط مگنت، همگن گردید. پس از آن به بطری‌های درپوش‌دار منتقل و جهت جذب کامل آب در طول شب، در یخچال قرار داده شد. روز بعد، پس از هم‌دمایی با محیط و هموژن‌سازی مجدد فاز

گرفت. تعیین پایداری اکسایشی در سامانه مدل بلافاصله پس از تولید و پس از آن هر چهار روز به مدت 4 هفته، با استفاده از روش فریک‌سیانید، طبق روش گزارش شده توسط Chi و همکاران (2015) انجام شد. به‌طور خلاصه مقدار 0/1 میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده با 4/7 میلی‌لیتر اتانول (75 درصد)، 0/1 میلی‌لیتر تیوسیانات‌آمونیم (30 درصد)، و 0/1 میلی‌لیتر کلریدفروس (0/02 مولار) در اسید کلریدریک 3/5 درصد، مخلوط گردید. پس از 3 دقیقه، مقدار جذب بر اثر شدت رنگ ایجاد شده، که بیانگر میزان اکسیداسیون اولیه روغن می‌باشد، در طول موج 500 نانومتر قرائت و گزارش شده است.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از برنامه کامپیوتری SPSS 17.0 (SPSS Statistical Software, Inc., Chicago, IL, USA) انجام شد. داده‌ها براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار ($n=3$) گزارش شده است. برای مقایسه تفاوت بین میانگین داده‌ها از آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار، پس‌آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan's multiple range test) در سطح معنی‌دار بودن $p \leq 0/05$ مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

ترکیبات تقریبی پوست

تیمار با هیدروکسید سدیم و اسید استیک علاوه بر بی‌رنگ کردن و شفاف‌سازی، موجب جذب آب و تورم پوست گردید. میزان رطوبت پوست پس از تیمار از 76/20 به 85/63 به میزان حدود 12/4 درصد افزایش یافت (جدول 2). به تناسب افزایش رطوبت، هریک از سایر ترکیبات موجود در ماده خشک پوست شامل پروتئین، لیپید و خاکستر نیز کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0/05$). نتایج اثرات تیمار اولیه بر تغییرات ترکیبات تقریبی پوست در این تحقیق مشابه نتایج گزارش شده توسط Alemán و همکاران (2011) در خصوص کاهش قابل ملاحظه میزان چربی و Zhang و همکاران (2017) در خصوص جذب آب و تورم پوست، می‌باشد. می‌توان ادعا نمود که روش و شرایط پیش‌تیمار به کار رفته، مقادیر روغن و خاکستر را تا سطح قابل قبول کاهش داد.

ساختار میکروسکوپی امولسیون‌ها

شواهدی از تجمع/ بهم‌پیوستن و ایجاد خوشه پس از گذشت 24 ساعت نگهداری در یخچال در میکروامولسیون‌های حاوی روغن کیلکای ریزپوشانی شده در دو pH 3/4 و 6/8 مشاهده نشد (شکل 1). مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده به صورت همگن توزیع گردیده، روغن ماهی را پوشش دادند. براساس مشاهده خصوصیات مرفولوژیک

که در آن مقدار روغن کل از وزن روغن اولیه اضافه شده به امولسیون محاسبه شده است.

برای محاسبه درصد روغن آزاد از معادله (2) استفاده شد:

$$(2) \quad 100 \times \text{روغن کل} / \text{روغن سطحی} = \text{روغن آزاد} (\%)$$

پایداری امولسیون

پایداری امولسیون با اندکی اصلاحات، طبق روش گزارش شده توسط Carneiro و همکاران (2012) با آزمایش تشکیل خامه محاسبه گردید. بلافاصله پس از تهیه امولسیون، مقدار 25 میلی‌لیتر از هر نمونه درون لوله‌های مدرج درپوش‌دار ریخته شد. پس از دربندی به مدت یک هفته در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. حجم فاز فوقانی جدا شده محاسبه و درصد جداشدن با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$(3) \quad (H_1/H_0) \times 100 = \text{جدا شدن} (\%)$$

که در آن H_0 بیانگر حجم اولیه امولسیون و H_1 نشان‌دهنده فاز فوقانی جدا شده می‌باشد.

اندازه قطرات امولسیون

میانگین اندازه قطرات میکروامولسیون با استفاده از دستگاه پراکنش نور لیزر Mastersizer (Malvern Instruments, UK)، در دمای آزمایشگاه اندازه‌گیری شد. مقدار کمی از هر نمونه با آب رقیق و با مگنت همزده شد. تعیین توزیع اندازه قطرات در هر آزمایش تا ثابت شدن و قرائت کامل ادامه یافت. اندازه قطرات برحسب D_{32} میانگین قطر ساتر بیان گردیده است (Klaypradit et al., 2008).

ساختار میکروسکوپی امولسیون‌ها

میکروسکوپ نوری (LABOMED, LX400، آمریکا) متصل به کامپیوتر با برنامه Turbo scan (TSView) از شرکت TSDT مورد استفاده قرار گرفت. مشاهده با عدسی $\times 40$ و پس از 24 ساعت صورت گرفت. رقیق‌سازی نمونه‌ها جهت مشاهده میکروسکوپی با سدیم دو سولفات 0/1 درصد نسبت 1 به 10 انجام شد (Koocheki et al., 2009).

ارزیابی پایداری اکسایشی سامانه روغن ماهی ریزپوشانی

شده

اثر محافظت‌کنندگی غلظت‌های 1 تا 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیدرولیز پوست کپور نقره‌ای بر پایداری اکسایشی روغن ریزپوشانی شده کیلکا در محلول‌های اسید سیتریک نمکی با pH 3/4 (مشابه غذاهای اسیدی مانند آبمیوه‌ها) و بافر فسفات نمکی با pH 6/8 (مشابه فرآورده‌های با pH خنثی نظیر شیر) (Taherian et al., 2011) در دمای 45°C در تاریکی (Carneiro et al., 2012) مورد ارزیابی قرار

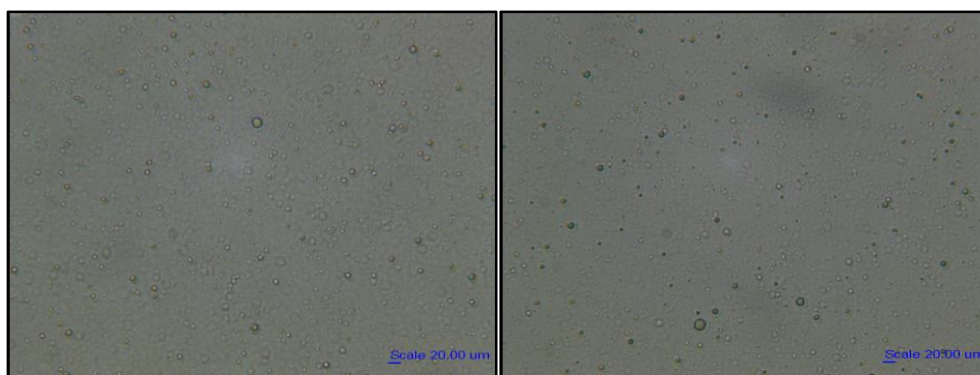
امولسیون‌ها وجود دارند. حضور قطرات بزرگ در امولسیون می‌تواند موجب کاهش پایداری گردد (Surh et al., 2006). مشاهده اخیر منطبق و تأیید کننده یافته‌های حاصل از اندازه قطرات و نسبت جدا شدن امولسیون (جدول 3) می‌باشد

میکروامولسیون‌ها می‌توان ادعا نمود که در صورت عدم استفاده از کمپلکس کربوهیدرات-پپتید و تنها با استفاده از مواد دیواره‌ای به کار رفته می‌توان ریزپوشانی مناسب روغن کیلکا را با استفاده از فرآیند همگن‌سازی مناسب انجام داد. مشاهدات با میکروسکوپ نوری نشان داد که جمعیت کوچکی از قطرات بزرگتر پس از همگن‌سازی، در

جدول 2- ترکیبات تقریبی پوست کپور نقره‌ای قبل و پس از تیمار با هیدروکسید سدیم و اسید استیک* (g/100g)

شاخص	پوست اولیه	پوست پیش تیمار شده
رطوبت	76/20 ^{a±} 0/54	85/63 ^{b±} 0/57
پروتئین	19/36 ^{a±} 0/49	13/62 ^{b±} 0/43
چربی	2/47 ^{a±} 0/21	0/18 ^{b±} 0/07
خاکستر	1/69 ^{a±} 0/16	0/57 ^{b±} 0/03
pH	-	7/1 ± 0/11

*حروف متفاوت در ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد (p<0.05) (±SD).



شکل 1- تصویر میکروسکوپ نوری میکروامولسیون‌های روغن کیلکا با ترکیبات مالتودکسترین و نشاسته اصلاح‌شده در های 6/8 (سمت راست) و 3/4 (سمت چپ)، پس از 24 ساعت نگهداری در دمای یخچال

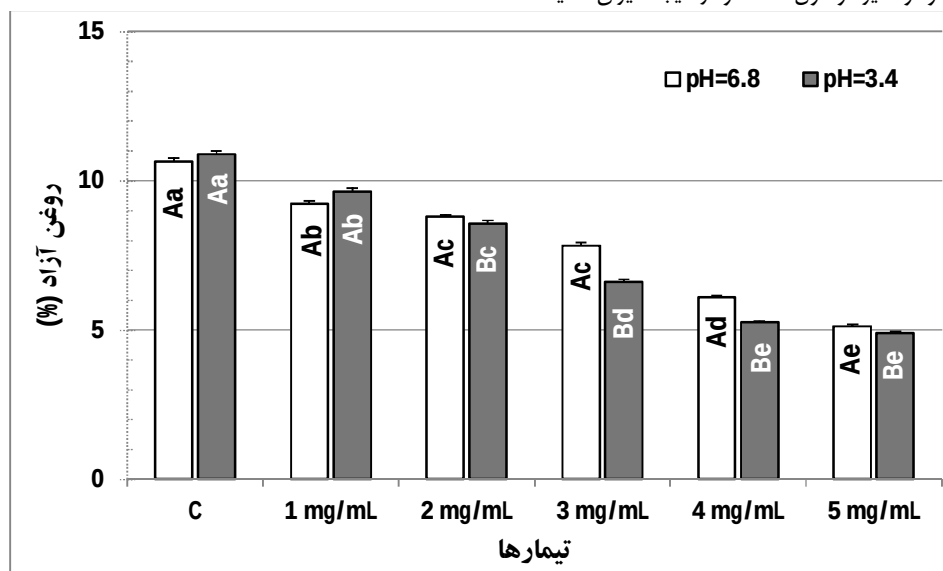
در سامانه میکروامولسیون روغن ماهی، باقی می‌ماند. افزودن هیدرولیز پروتئینی موجب افزایش ظرفیت امولسیون‌کنندگی می‌شود و میزان روغن آزاد امولسیون‌نشده را کاهش می‌دهد. در عین حال با افزایش میزان هیدرولیز در لایه بینابینی آب و روغن در pH اسیدی نیز میزان روغن ریزپوشانی‌شده، متناسب با غلظت، افزایش می‌یابد. پروتئین‌های استخراج شده از سویا، آب‌پنیر، کازئین، ماهی و گوشت، ترکیبات دوقطبی (آمفیفیلک) محسوب شده و می‌توانند در تسهیل تشکیل، بهبود پایداری و تولید ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مناسب در امولسیون‌های O/W به‌عنوان امولسیفایر در مواد غذایی مورد استفاده قرارگیرند (Dickinson, 2006). پوشش کامل قطرات روغن اغلب مستلزم به کارگیری غلظت بحرانی (C*) پروتئین در فاز آبی است. در غلظت پایین پروتئین (C<C*)، سطح روغن به‌طور کامل با پروتئین پوشیده نخواهد شد. پایداری مطلوب امولسیون مستلزم پوشش کامل سطوح بینابینی روغن- آب بدون باقی گذاشتن مقدار قابل ملاحظه

تغییرات روغن آزاد و کارایی ریزپوشانی

میزان روغن آزاد برای تیمار شاهد در pH های 6/8 و 3/4 تفاوت قابل ملاحظه‌ای نشان نداد (p>0.05). افزودن مقدار 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیدرولیز، میزان روغن آزاد میکروامولسیون را در مقایسه با شاهد، به‌طور معنی‌داری کاهش داد و این عملکرد در pH های مورد بررسی یکسان بود (شکل 2). اثرات pH در غلظت‌های هیدرولیز 2 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و بالاتر، محسوس بود. بدین صورت که در غلظت‌های مساوی، میزان روغن آزاد در pH 3/4 بطور قابل ملاحظه‌ای، در مقایسه با pH 6/8، پائین‌تر بود (p<0.05). در عین حال ارتباط مستقیم و معکوس بین غلظت هیدرولیز و میزان روغن آزاد مشاهده گردید. هیدرولیز پوست کپور نقره‌ای با آلکالاز، موجب شکستن پیوندهای پپتیدی و رها شدن مجموعه‌ای از پپتیدهای با نسبت‌ها و توالی‌های اسید⁻های متنوع و اوزان مولکولی مختلف می‌گردد. نتایج نشان داد که در غیاب هیدرولیز، مقدار روغن آزاد نسبتاً قابل ملاحظه‌ای

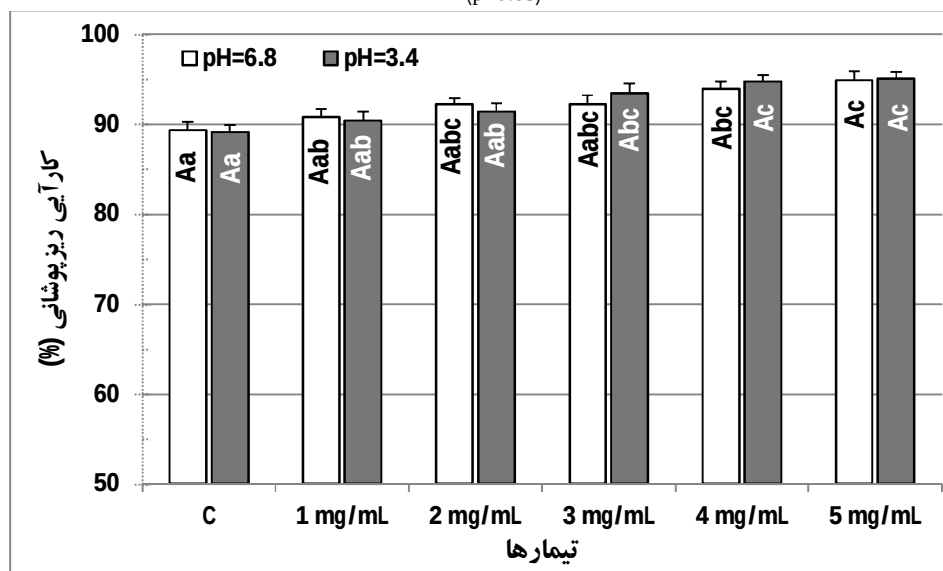
سطحی آن‌ها تغییر خواهد نمود (Zhu et al., 2018). تحقیقات تکمیلی در زمینه درک مکانیسم دقیق برهم‌کنش‌های بین پروتئین‌ها و پپتیدها با سایر ترکیبات امولسیفایر و مواد دیواره‌ای نظیر مالتودکسترین و نشاسته اصلاح‌شده شیمیایی مورد نیاز می‌باشد.

پروتئین جذب نشده است ($C^*=C$) (Dickson, 1999). pH فاز آبی نیز بر عملکرد هیدرولیز و میزان روغن آزاد میکروامولسیون تأثیر داشت. پپتیدهای موجود در هیدرولیزهای پروتئینی، در pH‌های مختلف دارای توزیع بار الکتریکی متفاوت می‌باشند که موجب تغییر در برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک بین خود و سایر مولکول‌ها شده و در نتیجه میزان فعالیت



شکل 2- میزان روغن آزاد تیمارهای مختلف روغن کیلکا ریزپوشانی شده با مالتودکسترین و نشاسته اصلاح‌شده و تیمارهای 1-5 میلی گرم بر میلی لیتر از هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای در pH‌های مختلف ($\pm$ SD)

*حروف کوچک و بزرگ متفاوت درون ستون‌ها، به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای مختلف در یک pH و بین pH‌های مختلف برای هر تیمار می‌باشند ($p < 0.05$).



شکل 3- کارایی ریزپوشانی تیمارهای مختلف روغن کیلکا ریزپوشانی شده با مالتودکسترین و نشاسته اصلاح‌شده و تیمارهای 1-5 میلی گرم بر میلی لیتر از هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای در pH‌های مختلف ($\pm$ SD)

*حروف کوچک و بزرگ متفاوت درون ستون‌ها، به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای مختلف در یک pH و بین pH‌های مختلف برای هر تیمار می‌باشند ($p < 0.05$).

نتایج کارایی ریزپوشانی تیمارهای مختلف روغن کیلکا با مواد دیواره‌ای و تیمارهای 1 تا 5 میلی گرم بر میلی لیتر از هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای در pH های مختلف در شکل 3 نشان داده شده است. در هیچیک از تیمارها اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین pH های مورد بررسی مشاهده نگردید. استفاده از غلظت‌های 1 تا 3 میلی گرم بر میلی لیتر از هیدرولیز حاصل، اثر معنی داری بر کارایی ریزپوشانی نسبت به تیمار شاهد نداشت. تیمار 5 میلی گرم بر میلی لیتر با بالاترین کارایی ریزپوشانی، اختلاف معنی داری را با تیمارهای شاهد و 1 میلی گرم بر میلی لیتر در pH 6/8، و تیمارهای 1 تا 2 میلی گرم بر میلی لیتر در pH 3/4 نشان داد ($p > 0.05$). در مجموع روند تغییرات کارایی ریزپوشانی، مشابه و متناسب با نتایج به دست آمده در خصوص میزان روغن آزاد می باشد.

اندازه قطرات میکرومولسیون

میانگین اندازه قطرات امولسیون (D_{32}) تیمارهای شاهد در pH های 6/8 و 3/4، اختلاف معنی داری نشان نداد (جدول 3). استفاده از غلظت 1 میلی گرم بر میلی لیتر هیدرولیز نیز اثر معنی داری بر میانگین اندازه قطرات در مقایسه با تیمار شاهد در هیچیک از pH ها ایجاد نمود. افزودن هیدرولیز به میزان 2 میلی گرم بر میلی لیتر و بیشتر، موجب

کاهش قابل ملاحظه اندازه قطرات در مقایسه با گروه شاهد گردید ($p < 0.05$). تیمارهای دارای 3 تا 5 میلی گرم بر میلی لیتر تفاوت معنی داری را از حیث میانگین اندازه قطرات در pH 6/8 نشان ندادند. در pH 3/4 تیمار 5 میلی گرم بر میلی لیتر دارای کوچکترین میانگین اندازه قطرات بوده و تفاوت معنی داری را با تمامی تیمارهای با غلظت پائین تر نشان داد. یافته اخیر موافق با دیگر نتایج تحقیق بوده و بیان می دارد که افزودن میزان 2 میلی گرم بر میلی لیتر و بیشتر، از پتیدیهای حاصل از هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای، موجب افزایش ظرفیت امولسیون کنندگی و فشردگی بیشتر قطرات خواهد گردید. مشخص گردیده که ویژگی‌های امولسیون مانند پایداری، ویسکوزیته، اندازه قطرات و همچنین میزان روغن آزاد و پایداری اکسایشی، متأثر از نوع و ترکیب مواد دیواره‌ای مورد استفاده برای ریزپوشانی خواهند بود (Jafari et al., 2008). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ترکیب مالتودکسترین با برخی ترکیبات نظیر نشاسته اصلاح شده موجب ارتقای ظرفیت امولسیون کنندگی آن می گردد (Carneiro et al., 2012). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزودن پتیدها علاوه بر نشاسته اصلاح شده، موجب بهبود خواص سطحی و افزایش ظرفیت امولسیون کنندگی در سامانه امولسیون خواهد گردید.

جدول 3- میانگین اندازه قطرات و پایداری میکرومولسیون‌های تهیه شده با نسبت‌های مختلف پتیدیهای حاصل از هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای در pH های 6/8 و 3/4 (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

شاخص	تیمار	pH	شاهد	1 mg/mL	2 mg/mL	3 mg/mL	4 mg/mL	5 mg/mL
$(\mu m) D_{32}$	6/8		5/69 ^{Aa} $\pm$ 0/12	5/81 ^{Aa} $\pm$ 0/15	5/12 ^{Ab} $\pm$ 0/09	4/58 ^{Ac} $\pm$ 0/13	4/73 ^{Ac} $\pm$ 0/11	4/31 ^{Ac} $\pm$ 0/10
	3/4		5/88 ^{Aa} $\pm$ 0/13	5/79 ^{Aa} $\pm$ 0/17	5/02 ^{Ab} $\pm$ 0/16	4/69 ^{Ab} $\pm$ 0/15	4/85 ^{Ab} $\pm$ 0/11	4/08 ^{Ac} $\pm$ 0/12
جدا شدن امولسیون (%)	6/8		4/8 ^{Aa} $\pm$ 0/27	3/9 ^{Aab} $\pm$ 0/31	3/2 ^{Abc} $\pm$ 0/19	3/1 ^{Abc} $\pm$ 0/26	2/6 ^{Ac} $\pm$ 0/17	1/8 ^{Ad} $\pm$ 0/12
	3/4		5/5 ^{Aa} $\pm$ 0/34	4/7 ^{Aa} $\pm$ 0/28	4/5 ^{Bab} $\pm$ 0/33	4/4 ^{Bab} $\pm$ 0/31	3/5 ^{Bbc} $\pm$ 0/21	3/0 ^{Bc} $\pm$ 0/18

* حروف متفاوت بزرگ در ستون و کوچک در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار آماری می باشند ($p < 0.05$).

پایداری امولسیون

پایداری امولسیون در برابر دوفاز شدن و تشکیل خامه در pH 6/8 نسبت به pH 3/4 بیشتر بوده و اختلاف معنی داری را در غلظت‌های 2 تا 5 میلی گرم بر میلی لیتر نشان داد (جدول 3). در pH 6/8 استفاده از غلظت 5 میلی گرم بر میلی لیتر موجب افزایش قابل ملاحظه پایداری امولسیون نسبت به تمامی تیمارهای مورد بررسی گردید و کمترین میزان جدا شدن امولسیون مشاهده شد. در pH 3/4 اختلاف معنی داری بین غلظت‌های 4 و 5 میلی گرم بر میلی لیتر از حیث پایداری امولسیون مشاهده نگردید. در عین حال تنها این تیمارها اختلاف معنی دار آماری با تیمار شاهد نشان دادند ($p < 0.05$). ادعا شده است که اندازه کوچکتر ذرات امولسیون در شرایط یکسان همگن سازی می تواند موجب بهبود

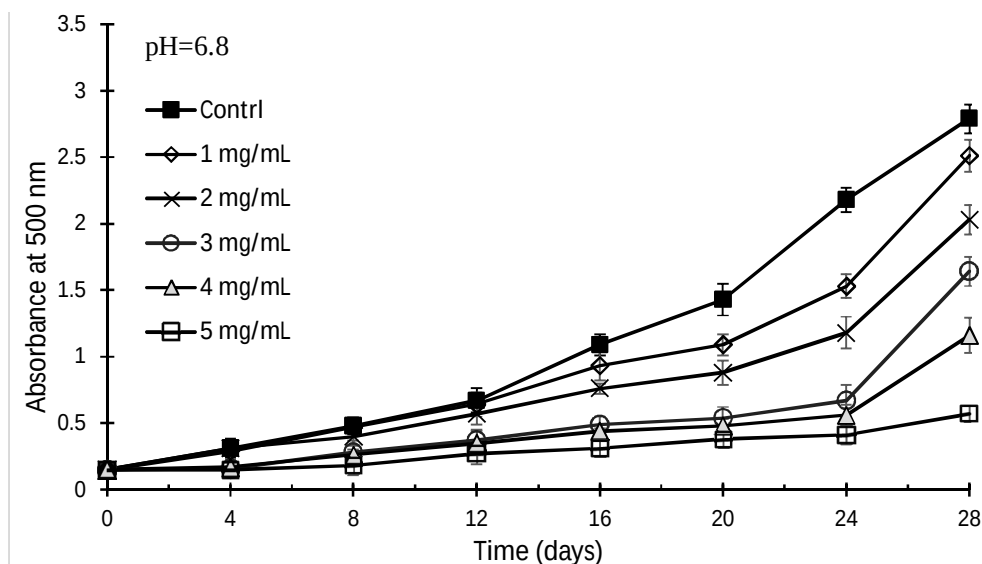
پایداری در برابر بهم پیوستن، به دلیل افزایش نیروهای دافعه و کاهش نیروهای جاذبه بین قطرات، و همچنین کاهش گرایش به جدا شدن ثقلی و تشکیل خامه گردد (Zhu et al., 2018). نتایج تفاوت قابل ملاحظه بین اندازه قطرات امولسیون در تیمارهای 5 میلی گرم بر میلی لیتر در دو pH به کار رفته را نشان نداد (جدول 3). بدین ترتیب به نظر می رسد که عامل تغییرات بار الکتریکی ناشی از تفاوت pH بر پایداری امولسیون در برابر دوفاز شدن مؤثر واقع گردیده است. pH ایزوالکتریک اغلب پتیدها بین 4/5 تا 5/5 بوده و بدین ترتیب افزایش pH از 3/4 به 6/8، موجب تغییر بار الکتریکی خالص پتیدها از مثبت به منفی خواهد گردید. (Taherian et al., 2011). میزان بار الکتریکی پتیدها به درجه یونیزاسیون گروه‌های آمین ($-NH_2$) و کربوکسیل

روند توسعه اکسیداسیون وابسته به غلظت پپتید و برای تیمار شاهد و تیمارهای 1 تا 4 میلی گرم بر میلی لیتر به صورت غیرخطی بود. بدین صورت که ابتدا افزایش پراکسید با شیب ملایم و سپس با شتاب تندی صورت گرفت و این روند با افزایش غلظت پپتید کندتر شد. این شتابگیری برای تیمار شاهد از روز 12 و برای سایر تیمارها، متناسب با غلظت، در زمان طولانی تر بود. البته روند این افزایش برای شاهد از روز 20 و برای اغلب تیمارها از روز 24، با شتاب بیشتری اتفاق افتاد (شکل 4 و 5). طی 12 روز اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین تیمار شاهد با تیمارهای 2 و 1 میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده نگردید ($p > 0.05$). تغییرات اکسایشی مشابه، در سامانه مدل اسید لینولئیک (دمای 40 درجه سلسیوس، pH خنثی) تنها طی مدت 3 روز در تیمار شاهد توسط Cai و همکاران (2015) و Chi و همکاران (2015) گزارش شده است. با وجود استعداد اکسایش پذیری بسیار بالای اسیدهای چرب زنجیره بلند چندغیراشباع موجود در روغن کیکلا (جدول 1) در دمای 45 درجه سلسیوس، بالاتر بودن پایداری اکسایشی تیمار شاهد در این تحقیق را می توان به ریزپوشانی مناسب و نقش محافظت کنندگی فیزیکی مواد دیواره‌ای نسبت داد. در روغن بذرکتان ریزپوشانی شده با مخلوط مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده، میزان پراکسید پس از 2 هفته و محصولات ثانویه اکسایش در فضای بسته بندی⁵ (پروپانال و هگزانال) پس از 3 هفته نگهداری در دمای 45 درجه سلسیوس افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان داده است (Carneiro et al., 2012).

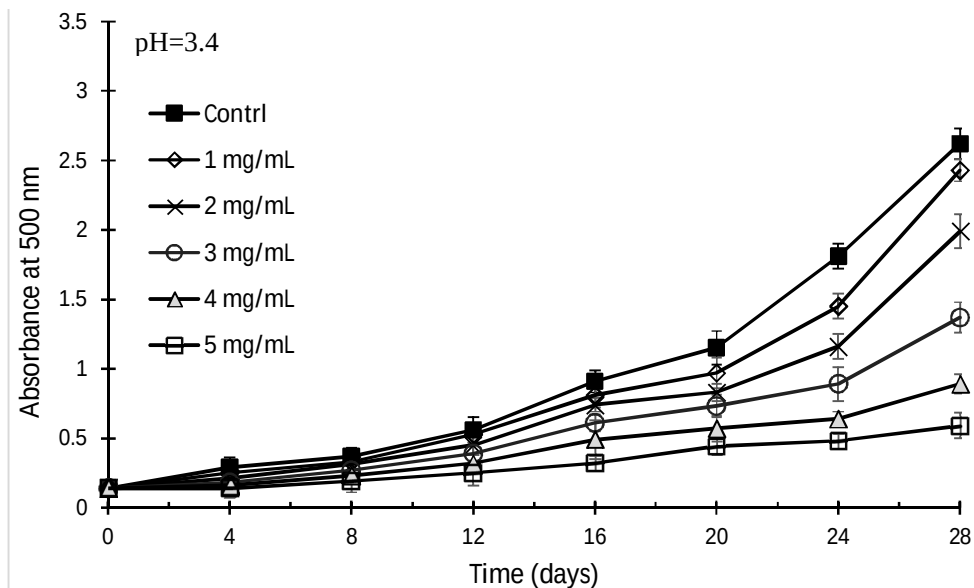
(-COOH) و در ارتباط مستقیم با pH فاز آبی احاطه کننده خواهد بود (Surh et al., 2006). در حوالی pH ایزوالکتریک، تعداد گروه‌های با بار مثبت و منفی برابر گردیده و برآیند بار الکتریکی مولکول صفر یا خنثی می‌شود. افزایش pH پس از این نقطه موجب القای بار الکتریکی منفی و افزایش تعداد گروه‌های آنیونیک و کاهش گروه‌های کاتیونیک خواهد شد (Taherian et al., 2011). بار منفی پپتیدهای قرار گرفته در سطح بینابینی در pH 6/8 می‌تواند موجب تشدید برهم کنش‌های بین پپتید - روغن ماهی - مواد دیواره‌ای و در نتیجه پایداری بیشتر امولسیون گردد.

پایداری اکسایشی میکروامولسیون روغن ماهی کیکلای ریزپوشانی شده

توانایی پپتیدهای حاصل از هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای در جلوگیری یا به تأخیر انداختن اکسیداسیون اولیه لیپیدها، در سامانه مدل میکروامولسیون روغن کیکلا، در دو pH اسیدی و خنثی مورد ارزیابی قرار گرفته است (شکل 4 و 5). نتایج نشان داد گروه شاهد در pHهای مورد بررسی، دارای بالاترین میزان جذب بود که بیانگر بیشترین میزان اکسایش در زمان‌های مختلف نمونه برداری طی 28 روز، می‌باشد. بدین ترتیب به‌رغم نوسانات قابل مشاهده، پپتیدهای موجود در هیدرولیز پوست کپور نقره‌ای توانستند به‌طور موثری سرعت اکسایش روغن کیکلای ریزپوشانی شده در سامانه مدل را کند نمایند.



شکل 4- پایداری اکسایشی روغن کیکلای ریزپوشانی شده با مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده در حضور غلظت‌های مختلف هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای طی 4 هفته نگهداری در دمای 45°C و pH 6/8 (±SD).



شکل 5- پایداری اکسایشی روغن کیلکای ریزپوشانی شده با مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده در حضور غلظت‌های مختلف هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای طی 4 هفته نگهداری در دمای 45°C و pH 3/4 (±SD).

میکروامولسیون روغن کیلکا، نظیر میزان روغن آزاد، کارایی ریزپوشانی، اندازه قطرات و پایداری امولسیون، فعالیت محافظت‌کنندگی مشاهده شده ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی پیتیدهای موجود در هیدرولیز و مستقل از pH می‌باشد. سرعت اکسایش روغن آزاد در مقایسه با روغن ریزپوشانی‌شده، حتی در حضور هیدرولیزهای پروتئینی به‌مراتب بیشتر خواهد بود. روند تغییرات اکسیداسیون اولیه در سامانه امولسیون بدون ریزپوشانی، برای اسید لینولئیک (Cai et al., Dong et al., 2008) و روغن کبد ماهی کاد (Ghelichi et al., 2017) بررسی شده و عمده تغییرات اکسایشی برای تیمارها، طی حداکثر 7 روز گزارش گردید. در تحقیق حاضر نیز در صورت اکسایش اولیه قابل ملاحظه روغن آزاد، انتظار می‌رفت که تغییرات میزان جذب در 2 تا 3 روز نخست مشاهده گردد. در خصوص اثر تغییرات میانگین اندازه قطرات بر پایداری اکسایشی تیمارهای مختلف نیز نتایج نشان‌دهنده این واقعیت است که این دو پدیده مستقل از یکدیگر اتفاق افتاده‌اند. غلظت‌های 3 تا 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیدرولیز در pH 6/8 و 2 تا 4 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در pH 3/4 اثر معنی‌داری بر میانگین اندازه قطرات امولسیون‌ها نداشته‌اند (جدول 3) در حالیکه اثرات این غلظت‌ها بر پایداری اکسایشی قابل ملاحظه بوده است. ادعا شده است که ترکیب سطح‌بینایی بسیار مهم‌تر از مساحت کلی سطح می‌باشد (Dursch et al., 2008). بدین ترتیب اختلافات مربوط به پایداری اکسایشی تیمارهای با غلظت‌های مختلف هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای را نمی‌توان در ارتباط با تفاوت در میانگین اندازه قطرات دانست.

روند افزایش میزان جذب برای تیمار 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر طی 28 روز به‌صورت خطی و با شیب ملایم بوقوع پیوسته است. این روند برای pH‌های 3/4 و 6/8 مشابه بود (شکل 4 و 5). فرایند اکسیداسیون اولیه روغن بسیار پیچیده و مستلزم تشکیل و انتشار رادیکال‌های لیپیدی و هیدروپراکسیدها در حضور اکسیژن می‌باشد. فعالیت قوی ممانعت‌کنندگی اکسیداسیون اولیه هیدرولیز پوست کپور نقره‌ای در سامانه میکروامولسیون ریزپوشانی‌شده روغن کیلکا، بیانگر این واقعیت است که پیتیدهای موجود قادر بودند تا با رادیکال‌های تشکیل شده، شامل رادیکال پراکسیل، واکنش داده و در نتیجه از چرخه انتشار اکسیداسیون اولیه جلوگیری به عمل آورند. پیتیدها و هیدرولیزهای پروتئینی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی مختلفی از خود بروز می‌دهند که بستگی به اندازه پیتیدها، توالی اسیدهای آمینه و حضور اسیدهای آمینه خاص دارد (Li et al., 2017). برخی اسیدهای آمینه آگروز، نظیر هیستیدین به دلیل دارا بودن حلقه ایمیدازول، می‌توانند با دادن هیدروژن، رادیکال‌ها را مهار و در برابر اکسیداسیون لیپیدها فعال باشند (Chi et al., 2015). امولسیون حاوی مقادیر 500 تا 1000 قسمت در میلیون هیدرولیز ژلاتین پوست کوسه نوک باله سیاه (*C. limbatus*) با استفاده از آنزیم شیره پایا، قادر بوده است تا به‌طور موثری اکسایش اولیه اسید لینولئیک را به تأخیر اندازد (Kittiphattanabawon et al., 2012).

مقایسه نتایج حاصل از پایداری اکسایشی (شکل 4 و 5) و سایر نتایج این تحقیق (شکل 2، 3 و جدول 3)، تأیید‌کننده این نظریه است که به‌رغم اثرات هیدرولیز حاصل بر برخی ویژگی‌های ساختاری

به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در تولید روغن ماهی ریزپوشانی‌شده، برای غنی‌سازی انواع مواد غذایی با دامنه گسترده pH، وجود دارد.

تشکر و قدردانی

دکتر علیرضا صادقیان و مهندس زینب زعفرانی در موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی مشهد جهت تهیه و ارزیابی میکروامولسیون‌ها، دکتر سمانه پژوهان مهر در تخلیص روغن خام ماهی کیلکا، مهندسین فرشته خدابخنده، فاطمه نوغانی، معصومه رهنما و صغری کمالی در مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان (بندرانزلی) برای آماده‌سازی و تیمار پوست و بسیاری از مراحل اجرایی تحقیق، همکاری صمیمانه و بی دریغی داشته‌اند که بدین‌وسیله از همگی تقدیر به‌عمل می‌آید.

نتیجه‌گیری

هیدرولیز پوست کپور نقره‌ای با آلکالاز، تولید پپتیدهای زیست‌فعال با خواص امولسیون‌کنندگی و آنتی‌اکسیدانی می‌نماید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی هیدرولیز حاصل، در سامانه میکروامولسیون، وابسته به غلظت می‌باشد و pHهای 3/4 و 6/8 اثر معنی‌داری بر آن ندارد. همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانی در ارتباط با تغییرات خصوصیات ساختاری و فیزیکی میکروامولسیون نبوده، از این‌رو می‌توان آنرا به عملکرد پپتیدهای تشکیل‌دهنده نسبت داد. افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدان به روغن کیلکای یزپوشانی‌شده با مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده شیمیایی، موجب افزایش قابل ملاحظه پایداری اکسایشی محصول خواهد گردید. پتانسیل استفاده از هیدرولیز آلکالازی پوست کپور نقره‌ای

منابع

- پژوهان مهر، س. (1395). سینتیک اکسایش روغن ماهی کیلکا در حضور فراکسیون‌های فعال آنتی‌اکسیدانی روغن‌های مغز و پوست بنه. پایان نامه دکتری علوم و صنایع غذایی. دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی: 48-49.
- سازمان شیلات ایران (1397). میزان پرورش ماهیان گرمابی. تاریخ مراجعه 1397/7/12. [\[http://fisheries.ir/report_viwe.aspx?rep=parvaresh%20mahi%20qarm\]](http://fisheries.ir/report_viwe.aspx?rep=parvaresh%20mahi%20qarm)
- Alemán, A., Giménez, B., Montero, P. & Gómez-Guillén, M.C., 2011, Antioxidant activity of several marine skin gelatins. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 407-413.
- AOAC, 2000, Association of Official Analytical Chemists. 17th Edition, *Official Method of Analysis*, Washington D.C., USA.
- Cai, L., Wu, X., Zhang, Y., Li, X., Ma, S. & Li, J., 2015, Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolysate of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Journal of Functional Foods*, 16, 234-242.
- Carneiro, C.F.G., Tonon, R.V., Grosso, C.R.F., & Hubinger, M.D., 2012, Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 443-451.
- Chalamaiah, M., Jyothirmayi, T., Diwan, P.V. & Dinesh Kumar, B., 2015, Antioxidant activity and functional properties of enzymatic protein hydrolysates from common carp (*Cyprinus carpio*) roe (egg). *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5817-5825.
- Chi, C.F., Cao, Z.H., Wang, B., Hu, F.Y., Li, Z.R. & Zhang, B., 2014, Antioxidant and functional properties of collagen hydrolysates from Spanish mackerel skin as influenced by average molecular weight. *Molecules*, 19, 11211-11230.
- Chi, C.F., Hu, F.Y., Wang, B., Li, Z.R. & Luo, H.Y., 2015, Influence of amino acid compositions and peptide profiles on antioxidant capacities of two protein hydrolysates from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) dark muscle. *Maine Drugs*, 13, 2580-2601.
- Dickinson, E., 2006, Structure formation in casein-based gels, foams and emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 288, 3-11.
- Dickinson, E., 1999, Caseins in emulsions: Interfacial properties and interactions. *International Dairy Journal*, 9: 305-312.
- Dong, S., Zeng, M., Wang, D., Liu, Z., Zhao, Y. & Yang, H., 2008, Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Food Chemistry*, 107, 1485-1493.
- Doucet, D., Otter, D.E., Gauthier, S.F. & Allen Foegeding, E., 2003, Enzyme-induced gelation of extensively hydrolyzed whey proteins by alcalase: Peptide identification and determination of enzyme specificity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6300-6308.
- Dursch, S., Benedetti, S., Scampicchio, M. and Mannino, S., 2008, Stabilization of Omega-3 fatty acids by microencapsulation. *Supplement to Agro FOOD industry*, 19(4), 31-32.
- Ghanbari, R., Zarei, M., Ebrahimpour, A., Abdul-Hamid, A., Ismail, A. & Saari, N., 2015, Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE) inhibitory and anti-Oxidant activities of sea cucumber (*Actinopyga lecanora*) hydrolysates. *International Journal of Molecular Science*, 16, 28870-28885.

- Ghelichi, S., Sørensen, A.M., García-Moreno, P.J., Hajfathalian, M., Jacobsen, C., 2017, Physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions fortified with enzymatic hydrolysates from Common carp (*Cyprinus carpio*) Roe. *Food Chemistry*, 237: 1048-1057.
- Global Organization for EPA and DHA Omega-3s (GOED). About EPA and DHA. <http://www.goedomega3.com/about-epa-and-dha>, March 19, 2018.
- Gómez-Guillén, M.C., Giménez, B., López -Caballero, M.E. & Montero, M.P., 2011, Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative resources: A review. *Food Hydrocolloid*, 25, 1813-1827.
- Gómez-Guillén M.C., López-Caballero M.E., Alemán A., López de Lacey, A., Giménez, B. & Montero, P., 2010, Antioxidant and antimicrobial peptide fractions from squid and tuna skin gelatin; In: Sea By-Products as Real Material: New Ways of Application, Section 7, 89-115, Estelle Le Bihan (Edit.). Transworld Research Network, Kerala, India.
- Jacobsen, C., Let M.B.; Nielsen, N.S. & Meyer, A.S., 2008, Antioxidant strategies for preventing oxidative flavor deterioration of foods enriched with n-3 polyunsaturated lipids: a comparative evaluation. *Trends in Food Science and Technology*, 19, 76-93.
- Jafari, S.M., Assadpoor, E., He, Y., Bhandari, B., 2008, Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26 (7), 816-835.
- Ketnawa, S., Benjakul, S., Martínez-Alvarez, O. & Rawdkuen, S., 2017, Fish skin gelatin hydrolysates produced by visceral peptidase and bovine trypsin: bioactivity and stability. *Food Chemistry*, 215, 383-390.
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Shahidi, F., 2012, Gelatin Hydrolysate from Blacktip Shark Skin Prepared Using Papaya Latex Enzyme, Antioxidant Activity and Its Potential in Model Systems. *Food Chemistry*, 135(3), 1118-1126.
- Klaypradit, W. & Huang, Y.W., 2008, Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. *LWT*, 41, 1133-1139.
- Kolanowski, W. & Laufenberg, G., 2006, Enrichment of food products with polyunsaturated fatty acids by fish oil addition (Review). *European Food Research Technology*, 222, 472-477.
- Koocheki, A., Kadmehdavee, R., Mortazavi, S. A., Shahidi, F. & Taherian, A. R. 2009, Influence of Alyssum homolocarpum seed gum on the stability and flow properties of O/W emulsion prepared by high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 23, 2416-2424.
- Li, X.R., Chi, C.F., Li, L. & Wang, B., 2017, Purification and identification of antioxidant peptides from protein hydrolysate of scalloped hammerhead (*Sphyrna lewini*) cartilage. *Marine Drugs*, 15(61), 16 pp.
- Mendis, E., Rajapakse, N. & Kim, S.K., 2005, Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53, 581-587.
- Surh, J.; Decker, E. A. and McClements, D. J., 2006, Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by fish gelatin. *Food Hydrocolloids*, 20, 596-606.
- Taherian, A.R., Britten, M., Sabik, H., & Fustier, P., 2011, Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion. *Food Hydrocolloids*, 25: 868-878.
- Tao, J., Zhao, Y.Q., Chi, C.F. and Wang, B., 2018, Bioactive peptides from cartilage protein hydrolysate of Spotless Smoothhound and their antioxidant activity in vitro. *Marine Drugs*, 16, 18 pp.
- Valencia, P., Pinto, M. & Almonacid, S., 2014, Identification of the key mechanisms involved in the hydrolysis of fish protein by alcalase. *Process Biochemistry*, 49(2), 258-264.
- Yi, J., Gobba, C.D., Skibsted, L.H. & Otte, J., 2017, Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activity of bioactive peptides produced by enzymatic hydrolysis of skin from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *International Journal of Food Properties*, 20(5), 1129-1144.
- Zhang, L., Zheng, Y., Cheng, X., Meng, M., Luoa, Y. & Li, B., 2017, the anti-photoaging effect of antioxidant collagen peptides from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin is preferable to tea polyphenols and casein peptides. *Food and Function*, 8, 1698-1707.
- Zhang, Y., Duan, X. & Zhuang, Y., 2012, Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin. *Peptides*, 38, 13-21.
- Zhong, S., Ma, C., Lin, Y.C. & Luo, Y., 2011, Antioxidant properties of peptide fractions from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) processing by-product protein hydrolysates evaluated by electron spin Resonance spectrometry. *Food Chemistry*, 126, 1636-1642.
- Zhu, Z., Zhao, C., Yi, J., Liu, N., Cao, Y., Decker, E.A. & McClements, D.J., 2018, Impact of interfacial composition on lipid and protein cooxidation in oil-in-water emulsions containing mixed emulsifiers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Downloaded from <http://pubs.acs.org> on May 15, 2018. 41 pp.



The effects of alcalase prepared silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin hydrolysate on some quality features and oxidative stability of microencapsulated Kilka fish oil

S. H. Jalili¹, R. Farhoosh^{2*}, A. Koocheki², A. A. Motallebi³

Received: 2018.05.29

Accepted: 2019.01.15

Introduction: Considerable amounts of essential fatty acids in fish oil makes it possible to use in the production of functional foods to meet nutritional needs and beneficial effects on health. One of the major problems is their high susceptibility to oxidative deterioration and consequent production of undesirable flavor. At present, some synthetic compounds are used as antioxidants in food and biological systems, but the use of synthetic antioxidants is of concern due to their potential health hazards. Therefore, the use of natural antioxidants in foods is the first choice. Enzymatic protein hydrolysis has been applied to food industry by-products to produce foods with enhanced functional properties. Antioxidant and antiradical activity of protein hydrolysates from meat, skin, bone, viscera and roes of various aquatic species has been reported. Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin (SCS), as low price by-product from minced products processing plants is available in I.R. Iran. Amino acids composition and sequencing determines the functional properties of peptides, which depends on the source of protein, the method and conditions of preparation and molecular weight distribution of resulting hydrolysate. The enzyme type and hydrolysis conditions, including enzyme/substrate ratio, temperature, time and pH, can affect the peptides length and functional properties of protein hydrolysates. The effects of hydrolysate from SCS hydrolyzed by alcalase on some quality features and oxidative stability of microencapsulated Kilka (*Clupeonella spp.*) oil at pH 6.8 and 3.4 were investigated.

Materials and methods: SCS was pre-treated with NaOH and acetic acid, washed and freeze dried. Proteolysis with alcalase (1% w/w) at 50 °C, without pH adjustment, was performed for 4 hours with gentle stirring. Enzyme inactivated by placing the sample in a boiling water bath for 15 minutes. After centrifugation at 13000 g for 20 minutes, supernatant was removed as silver carp skin hydrolysate (SCSH) and freeze dried. Emulsions were prepared with 31.25% dry material. 25% of wall materials (equal proportions of maltodextrin and Hi-Cap®100), fish oil 25% and SCSH (for preparing 1, 2, 3, 4 and 5 mg/mL treatments) in two adjusted pH 3.4 and 6.8, was used. Fish oil was refined using multi-layered column chromatography (alumina-silica gel), and fatty acid composition was determined. The emulsion pre-homogenized by the IKA Ultra-turrax at 15,000 rpm for 2 minutes and finally by a HSTO homogenizer at 350 bar for 5 circle, to produce microemulsion. Effects of treatments on the characteristics and oxidative stability of microencapsulated Kilka oil for 28 days in the dark at 45 °C were compared by determination of surface oil, microencapsulation efficiency, free oil, emulsion stability (%separation), droplet size, optical microscopic observation of morphology and peroxidation stability.

Results & discussion: Results showed significant differences between proximate composition of silver carp skin, before and after pre-treatment and revealed that applied method and conditions reduced the amounts of oil and ash to an acceptable level. No aggregation and cluster formation was observed in optical microscopic images of prepared emulsions. The effects of pH on the droplet size and microencapsulation efficiency were insignificant ($p > 0.05$), but the amount of free oil and emulsion stability were significant at ≥ 2 mg/mL concentrations of hydrolysate ($p < 0.05$). Peptides effectively retarded the preoxidation of Kilka oil in the model system. Hydrolysate antioxidant power was dose dependent. Peroxidation trends were nonlinear for control and 1-4 mg/mL treatments. These trends continued linearly, with mild slope for 5 mg/mL, and was similar for 2 pH during 28 days. Hydrolysate of SCS may be used as a natural antioxidant for the production of stable microencapsulated fish oil for the enrichment of various kinds of beverages with a wide range of pH.

Key words: Kilka fish oil, Silver carp skin hydrolysate, Alcalase, Microencapsulation, Oxidative stability.

1 and 2. Ph.D. of Food Science and Technology, and Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM), Mashhad, Iran.

3. Professor, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

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



اصلاح شیمیایی کیتوزان از طریق واکنش گلیکوزیلاسیون غیرآنزیمی به منظور بهبود خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی آن

فخری شهیدی^{1*} - فریده طباطبایی یزدی¹ - مجید نوش کام² - زهرا زارعی³ - فرشته فلاح³

تاریخ دریافت: 1397/07/12

تاریخ پذیرش: 1397/12/13

چکیده

واکنش گلیکوزیلاسیون غیرآنزیمی (مایلارد) به طور گسترده‌ای جهت بهبود ویژگی‌های بیولوژیکی و عملکردی پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها استفاده شده است. در این پژوهش، پری‌بیوتیک اینولین و قندهای پیش‌ساز آن (گلوکز و فروکتوز) از طریق واکنش مایلارد با کیتوزان گلیکوزیله گردید. تغییرات pH، محصولات حد واسطه و نهایی، تغییرات ساختاری، ظرفیت آنتی اکسیدانی و ویژگی ضدمیکروبی سامانه‌های کانژوگه مورد بررسی قرار گرفت. فرآیند حرارتی سبب کاهش معنی‌دار pH سامانه‌های کیتوزان - ساکارید گردید. بالاترین شدت ترکیبات حد واسطه (A 294nm) و کمترین شدت قهوه‌ای شدن (A 420nm) در سامانه کیتوزان - فروکتوز مشاهده شد؛ در حالی که کانژوگه کیتوزان - اینولین بیشترین A 420nm و کمترین نسبت تبدیل محصولات میانی به نهایی (A 294nm/A 420nm) را نشان داد. اتصال کووالانی کیتوزان به ساکاریدهای اینولین، فروکتوز و گلوکز با استفاده از طیف‌سنج فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR) تأیید گردید. واکنش مایلارد منجر به تشکیل محصولات قابل فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجه شد و به استثنای سامانه کیتوزان - گلوکز، سایر نمونه‌های کانژوگه حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی کمتری نسبت به نمونه‌های غیرکانژوگه نشان دادند که بیانگر بهبود فعالیت ضدمیکروبی کیتوزان بعد از واکنش با اینولین و فروکتوز می‌باشد. مطابق نتایج، کانژوگه‌های مایلارد، به‌ویژه اینولین - کیتوزان می‌تواند نوع جدیدی از ترکیبات زیست‌فعال بر پایه‌ی پری‌بیوتیک با ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی جهت استفاده در صنایع غذایی باشد.

واژه‌های کلیدی: اینولین، آنتی اکسیدان، ضدمیکروب، کیتوزان، واکنش مایلارد.

مقدمه

واکنش مایلارد با کانژوگه شدن ترکیبات حاوی گروه‌های کربونیل و آمین آزاد و بدون افزودن هیچ‌گونه ماده شیمیایی اضافی شروع می‌شود و گزارش شده است که تحت شرایط کنترل شده می‌تواند به عنوان روشی ایمن جهت بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی و ویژگی‌های حسی مواد غذایی به کار رود (de Oliveira et al., 2016). باور همگانی بر این است که رژیم غذایی روزانه انسان حاوی مقادیر قابل توجهی از MRPs می‌باشد (O'Brien et al., 1989). ترکیباتی از قبیل ملانوئیدین‌ها و محصولات بازآرایی آمادوری طی این واکنش تولید می‌شوند که فعالیت شلاته‌کنندگی و مهار رادیکال‌های اکسیژن از خود نشان می‌دهند (Wang et al., 2013). لازم به ذکر است که فعالیت ضدمیکروبی، ضد فشارخون بالا و پری‌بیوتیکی ملانوئیدین‌ها نیز گزارش شده است (Wang et al., 2011). از ویژگی‌های بارز دیگر این واکنش می‌توان به تولید ترکیباتی اشاره داشت که اثر ممانعت‌کنندگی بر آنزیم پلی‌فنتل اکسیداز داشته و در نتیجه قادر به جلوگیری از واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی در میوه‌جات و سبزیجات هستند

اکسیداسیون چربی‌ها با گسترش بد طعمی و تولید محصولات جانبی بالقوه سمی در مواد غذایی، قادر به کاهش ارزش تغذیه‌ای و بروز بیماری‌های مرتبط با این ترکیبات است (Zhong et al., 2015). آنتی اکسیدان‌های سنتزی مانند دی بوتیل هیدروکسی تولوئن⁴ (BHT)، دی بوتیل هیدروکسی آنیزول⁵ (BHA) و تترابوتیل هیدروکسی بنزن⁶ (TBHQ) به طور گسترده‌ای برای جلوگیری از این واکنش از طریق پایان دادن به واکنش‌های زنجیره رادیکالی استفاده می‌شوند. با اینحال نگرانی‌های اساسی در ارتباط با کاربرد این آنتی اکسیدان‌ها به دلیل اثرات سمی بالقوه آن‌ها بر سلامت انسان وجود دارد (Shahidi, 2000). محصولات واکنش مایلارد⁷ (MRPs) که به طور گسترده‌ای طی فرایند حرارتی و نگهداری مواد غذایی تولید می‌شوند، امکان استفاده به عنوان آنتی اکسیدان‌های طبیعی و با منشأ مواد غذایی جهت به تأخیر انداختن یا جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها را دارا می‌باشند (Yuan et al., 2015).

4 Butylated hydroxytoluene
5 Butylated hydroxyanisole
6 Tert-butyl hydroquinone
7 Maillard reaction products

1. 2 و 3- به ترتیب استاد، دانشجوی دکتری و دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
(*) نویسنده مسئول: (Email: fshahidi@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/food.v16i1.75740

عملکردی و بیولوژیکی قابل توجه در مواد غذایی، به ویژه غذاهای اسیدی مانند آمبوهجات استفاده کرد.

اینولین الیگومری با واحدهای تکرارشونده فروکتوز با پیوند گلیکوزیدی ($\beta(2\rightarrow1)$) و واحد انتهایی گلوکز می باشد. درجه ی پلیمریزاسیون اینولین بین 2-60 بوده و در پیاز، کنگر فرنگی، مارچوبه، تره، گندم و ریشه کاسنی مشاهده می شود (Kalyani Nair et al., 2014; Mutanda et al., 2010). این ترکیب به عنوان فیبر رژیمی شناخته شده و دارای فعالیت پری بیوتیکی و بعضی خواص مهم تکنولوژیکی (به عنوان جایگزین قند و چربی در محصولات کم چرب و عامل تغلیظ کننده، امولسیفایر و ژل دهنده) می باشد (Lopes et al., 2015). شاخص گلاسیمی و مقدار انرژی زایی آن پایین بوده و به ترتیب 46 و 1/5 کیلوکالری در گرم گزارش شده است (Mcdevitt-Pugh and Meyer, 2005). اینولین توسط آنزیم های روده کوچک پستانداران مانند سوکراز، آلفا آمیلاز و مالتاز هیدرولیز نمی شود و در روده بزرگ به راحتی توسط گونه های بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس مورد استفاده قرار می گیرد (Schaller-Povolny and Smith, 1999). برخی از ویژگی های فیزیولوژیکی آن از قبیل اثر ضدباکتریایی در برابر باکتری های بیماری زا، اثر ضدسرطانی، کاهش سطوح لیپید، اوره و اوریک اسید سروم خون، خطر بیماری قلبی - عروقی و افزایش جذب مواد معدنی به اثبات رسیده است (Karimi et al., 2015). حضور گلوکز، فروکتوز و فروکتان حاصل از فرایندهای آنزیمی طبیعی یا هیدرولیز سبب می شود که اینولین حاوی مقادیر مشخصی فعالیت احیاکنندگی باشد و درصد کل قند احیاکننده در آن حدود 4/1 درصد گزارش شده است (He, 2015). هدف از این تحقیق تولید محصولی زیست فعال با ظرفیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی قابل توجه از طریق گلیکوزیلاسیون غیرآنزیمی (مایلارد) کیتوزان با اینولین و واحدهای تشکیل دهنده آن (گلوکز و فروکتوز) به منظور بهره مندی از ویژگی های بارز کیتوزان و اینولین در کنار هم می باشد.

مواد و روش ها

کیتوزان (وزن مولکولی متوسط؛ 75-85 درصد استیل زدایی شده) و تری فنیل تترازولیوم کلراید² از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه شدند. اینولین زنجیره کوتاه (92 درصد محتوای اینولین و درجه پلیمریزاسیون ≤ 10) از شرکت آوا سلامت جاوید (ایران) خریداری گردید. سایر مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل اتانول 96 درصد (صنایع شیمیایی اتانول غدیر، ایران)، دیسک های آنتی بیوتیک (پادتن طب، ایران)، فروکتوز، گلوکز، استیک اسید گلاسیال، تری کلرواستیک اسید، سدیم هیدروکسید، کلرید آهن و فری سیانید پتاسیم (مرک، آلمان) بودند.

(Yuan et al., 2015). اگرچه ترکیبات متنوعی که طی واکنش مایلارد تولید می شوند ممکن است با کاهش هضم پذیری پروتئین ها و تولید بعضی ترکیبات سمی و جهش زا سبب تغییر ارزش تغذیه ای مواد غذایی شوند (Martins et al., 2000). سازوکارهای متفاوتی از قبیل شلاته کردن یون های فلزی، شکستن زنجیره رادیکالی، تخریب پراکسید هیدروژن و مهار کردن گونه های واکنشگر اکسیژن برای فعالیت آنتی اکسیدانی MRPs گزارش شده است (Nooshkam and Madadlou, 2016a). ظرفیت ضد میکروبی MRPs، به ویژه ملانوفیدین ها عمدتاً به اثر شلاته کنندگی این ترکیبات نسبت داده شده است (Rufián-Henares and Morales, 2008a). در این تحقیق از کیتوزان و اینولین و واحدهای تشکیل دهنده آن برای تولید MRPs استفاده شد.

کیتوزان به عنوان مشتق N- دی استیل شده ی کیتین، برخلاف اکثر پلی ساکاریدهای طبیعی مانند سلولز، دکستران، پکتین، آلژینیک اسید، آگار، آگاروز و کاراگینان که خنثی یا اسیدی می باشند، به شدت قلیایی بوده و دارای ویژگی های بارزی از قبیل تشکیل فیلم و شلاته کردن یون های فلزی است. این پلی ساکارید از طریق واکنش داسیله شدن¹ و با حذف گروه های استامید (NHCOCH_3) از موقعیت کربن شماره 2 کیتین تولید می شود (Kumar, 2000). فعالیت ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و ممانعت از قهوه ای شدن آنزیمی کیتوزان نیز گزارش شده است و عواملی مختلفی مانند نوع کیتوزان (درجه استیلاسیون و وزن مولکولی)، pH محیط، دما، حضور اجزای تشکیل دهنده مواد غذایی و غیره بر ظرفیت ضد میکروبی آن مؤثر هستند (Devlieghere et al., 2004). روش های مختلفی از قبیل واکنش مایلارد (Chang et al., 2016; Gullón et al., 2011)، پرتودهی (Matsushashi and Kume, 1997) و تشکیل کمپلکس با یون های Cu ، Ag ، Fe و Zn (Wang et al., 2004; Wang et al., 2005) جهت بهبود ویژگی های بیولوژیکی، به ویژه فعالیت ضد میکروبی کیتوزان معرفی شده اند. با توجه به اثرات جانبی دوزهای بالای پرتودهی بر سلامت انسان و همچنین پیوند الکتروستاتیکی بین کمپلکس های کیتوزان و یون های یاد شده که سبب ناپایداری کمپلکس در برابر تغییرات pH محیط می گردد، توجه ویژه ای به کمپلکس های کیتوزان با پیوندهای کووالانسی مانند کانژوگه های کیتوزان حاصل از واکنش مایلارد شده است، زیرا این ترکیبات نسبت به دماهای بالا و پایین (فریز کردن)، شرایط اسیدی و تغییرات قدرت یونی محیط پایداری بالایی نشان می دهند (de Oliveira et al., 2016). علاوه بر این، کانژوگه های مایلارد دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجهی می باشند. بنابراین می توان از این ترکیبات بعنوان مواد افزودنی زیست فعال با ویژگی های

شد. محلول کیتوزان - ساکارید قبل از حرارت دهی به عنوان شاهد استفاده شد (Nooshkam and Madadlou, 2016b).

طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)

طیف‌های FTIR نمونه‌های کیتوزان، فروکتوز، گلوکز و کانژوگه‌های حاصله با استفاده از اسپکترومتر به‌دست آمد. برای این منظور، بعد از مخلوط کردن نمونه‌های خشک شده با پتاسیم بروماید و فشردن آن‌ها به شکل قرص، طیف آن‌ها از 400 تا 4000 بر سانتی‌متر و در حالت عبوری⁷ به‌دست آمد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر پایه توان کاهندگی

توان کاهندگی سامانه‌های کیتوزان - ساکارید با استفاده از روش Li و همکاران (2013) با اصلاحات مورد نیاز اندازه‌گیری شد. برای این منظور، 1 میلی‌لیتر از نمونه‌های غیرکانژوگه و کانژوگه با 1 میلی‌لیتر آب مقطر و 1 میلی‌لیتر فری سیانید پتاسیم (1 درصد)، ترکیب و محلول حاصله هم‌زده گردید. بعد از حرارت دهی محلول به مدت 20 دقیقه در حمام آب و در دمای 50 درجه سلسیوس، 2/5 میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک 10 درصد به آن اضافه شد و مجدداً هم‌زده شد. محلول در 5000 برابر شتاب گرانشی به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ (Hettich Roto Silenta/K، آلمان) گردید. سپس 2 میلی‌لیتر روشناور با 2 میلی‌لیتر آب مقطر و 1 میلی‌لیتر کلرید آهن (FeCl₃) 0/1 درصد مخلوط شد و بعد از هم زدن و نگهداری به مدت 10 دقیقه در دمای محیط، جذب محلول در 700 نانومتر ثبت گردید. نتایج به‌صورت واحد جذب⁸ (AU) گزارش شد. جذب بالاتر مخلوط بیانگر توان کاهندگی بالاتر است. از محلول اتانولی BHT با غلظت 15 میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌عنوان آنتی‌اکسیدان استاندارد و جهت مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها استفاده گردید.

فعالیت ضد میکروبی

از دو روش ضد میکروبی زیر به‌منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی کانژوگه‌های مایلارد در شرایط برون تنی بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیاکلی*، *کپک اسپرژیلوس نایجر* و مخمر *کاندیدا آلیبیکس* استفاده گردید.

محیط‌های کشت و سویه‌های میکروبی

محیط‌های کشت مولر هیلتون آگار، مولر هیلتون براث، ساپروز دکستروز آگار و ساپروز دکستروز براث (مرک، آلمان) تهیه شدند. سویه‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس*¹ ATCC 25923، *سودوموناس آئروژینوزا*² ATCC 27853، *اشرشیا کلی*³ ATCC 25922، *باسیلوس سوبتیلیس*⁴ ATCC 23857، *کپک اسپرژیلوس نایجر*⁵ ATCC 16404 و مخمر *کاندیدا آلیبیکس*⁶ PTCC 5027 از آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی دانشگاه فردوسی مشهد (دانشکده کشاورزی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی) تهیه گردیدند.

تهیه کانژوگه‌های مایلارد

کانژوگه‌های مایلارد مطابق روش Chang و همکاران (2011) تولید شدند. برای این منظور، 0/5 گرم کیتوزان در 100 میلی‌لیتر استیک اسید 1 درصد حجمی - حجمی به مدت 1 ساعت روی همزن مغناطیسی حل شد. سپس 1 گرم از قندهای گلوکز، فروکتوز و اینولین به‌طور جداگانه به محلول کیتوزان 0/5 درصد اضافه شده و محلول حاصله تا حل شدن کامل قندها هم‌زده شد. pH محلول با کمک هیدروکسید سدیم 2 مولار روی $6/07 \pm 0/01$ تنظیم و سپس محلول در فالكون‌های پلاستیکی 50 میلی‌لیتری به مدت 15 دقیقه در دمای 121 درجه سلسیوس اتوکلاو گردید. بعد از فرایند حرارتی، نمونه‌ها سرد شده و آزمون‌های تغییر pH، پیشرفت واکنش قهوه‌ای شدن، تغییرات ساختاری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی در سامانه‌های کانژوگه انجام گردید.

اندازه‌گیری pH

تغییرات pH نمونه‌های کانژوگه بعد از فرایند حرارت‌دهی توسط دستگاه pH متر (Consort C831، بلژیک) ثبت گردید.

بررسی تولید محصولات میانی و نهایی واکنش مایلارد

تولید محصولات میانی یا حد واسط واکنش مایلارد بین کیتوزان و ساکاریدهای دیگر با اندازه‌گیری جذب فراینش نمونه‌ها در طول موج 294 نانومتر (A_{294 nm}) با استفاده از اسپکتروفوتومتر (WPA-S2000-UV/Vis، انگلیس) بررسی گردید. سامانه‌های کیتوزان - فروکتوز و کیتوزان - گلوکز جذب بالایی نشان دادند؛ به همین دلیل با آب مقطر و در نسبت 1:2 (آب مقطر: نمونه) رقیق شده و مقدار جذب نهایی در عدد 3 ضرب گردید. شدت قهوه‌ای شدن یا تولید محصولات نهایی سامانه‌های کانژوگه در طول موج 420 نانومتر (A_{420 nm}) تخمین زده

5 *Aspergillus niger*
6 *Candida albicans*
7 Transmission mode
8 Absorbance unit

1 *Staphylococcus aureus*
2 *Pseudomonas aeruginosa*
3 *Escherichia coli*
4 *Bacillus subtilis*

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی¹ به روش میکرودايلوشن براث و تری فنیل تترازولیوم کلراید
20 میکرولیتر از نمونه‌های کانژوگه و غیرکانژوگه (غلظت‌های 15، 7/5 و 3/75 میلی گرم در میلی لیتر) و 20 میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی (0/5 مک فارلند) به پلیت‌های 96 خانه‌ای استریل اضافه شدند. بعد از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها (دمای 27 درجه سلسیوس به مدت 72 ساعت برای قارچ‌ها و دمای 37 درجه سلسیوس به مدت 24 ساعت برای باکتری‌ها)، 20 میکرولیتر تری فنیل تترازولیوم کلراید 5 درصد به عنوان شاخص رنگی رشد به چاهک‌ها اضافه شد و پلیت‌ها مجدداً گرمخانه‌گذاری گردیدند. در صورتیکه رشد میکروبی رخ داده باشد، رنگ قرمز تیره یا ارغوانی در چاهک‌ها بعد از 24 ساعت برای قارچ‌ها و 0/5 ساعت برای باکتری‌ها قابل مشاهده است. اولین غلظت نمونه‌های کانژوگه و غیر کانژوگه که مانع ظهور رنگ قرمز تیره یا ارغوانی گردید، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی نمونه‌ها گزارش شد (Behbahani et al., 2017).

تعیین حداقل غلظت کشندگی

مقدار 100 میکرولیتر از چاهک‌های فاقد رنگ قرمز تیره یا ارغوانی آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی روی محیط کشت باکتریایی مولر هیلتون آگار و محیط کشت قارچی سابروز دکستروز آگار کشت داده شد. اولین غلظتی که باعث عدم رشد میکروبی شده بود، به عنوان حداقل غلظت کشندگی نمونه‌های کانژوگه و شاهد گزارش گردید (Behbahani et al., 2017).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

از نرم‌افزار SPSS 21 و آزمون واریانس یک‌طرفه برای تجزیه نتایج و Microsoft excel 2013 برای رسم نمودارها استفاده گردید. میانگین تیمارها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح اطمینان 95 درصد ($p < 0.05$) مقایسه شد.

نتایج و بحث

تغییرات pH طی واکنش مایلارد

در واکنش مایلارد، اتصال کووالانسی گروه آمین پروتئین با گروه کربونیل قند احیاءکننده و همچنین تولید اسیدهای آلی مانند استیک و فورمیک اسید سبب کاهش pH و اسیدی شدن محیط می‌شود (Liu et al., 2008). نتایج روند تغییرات pH نمونه‌ها بعد از فرآیند حرارتی در جدول 1 گزارش شده است. کانژوگاسیون سبب کاهش معنی‌دار pH

نمونه‌ها شد ($p < 0.05$) و شدت این کاهش در نمونه کیتوزان - گلوکز و کیتوزان - اینولین نسبت به کانژوگه کیتوزان - فروکتوز بیشتر بود. اختلاف pH در سامانه‌های کیتوزان - ساکارید ممکن است ناشی از واکنش‌پذیری متفاوت قندهای احیاءکننده باشد. در مطالعه‌ای بیان شد که واکنش‌پذیری بیشتر ترکیبات با وزن مولکولی پایین² (LMW) نسبت به انواع با وزن مولکولی بالا³ (HMW) ناشی از دافعه استری کمتر این ترکیبات است. در همین راستا، آلدوپتوزها نسبت به آلدوهگزوزها و مونوساکاریدها نسبت به دی یا الیگوساکاریدها واکنش‌پذیری بالاتری نشان می‌دهند. علاوه بر این، قندهای کتونی به دلیل وضعیت قرارگیری و دافعه استری بیشتر گروه کربونیل، واکنش‌پذیری کمتری نسبت به نوع آلدوزی دارند (O'Brien et al., 1989). کاهش بیشتر pH در سامانه کیتوزان - گلوکز نسبت به نوع کیتوزان - فروکتوز در این پژوهش، به دافعه استری کمتر گلوکز بر می‌گردد که با سرعت بیشتری با گروه آمین کیتوزان واکنش داده و در نهایت pH کمتری را سبب شده است. در ارتباط با اینولین، دلیل گروه احیا کننده کمتر نسبت به دو مونوساکارید دیگر، گروه آمین کیتوزان در زمان کمتری به گروه احیا کننده آن متصل شده و در نتیجه فرصت کافی برای تبدیل محصولات میانی به ترکیبات اسیدی را داشته است. در راستای نتایج این تحقیق، کاهش pH و اسیدی شدن محیط واکنش مایلارد در مطالعات مختلف نشان داده شده است (Benjakul et al., 2005; Kim and Lee, 2009).

بیشرفت واکنش گلیکوزیلاسیون

محصولات آمادوری یا هینز از طریق مسیرهای انولیزاسیون 1، 2 و 3 به محصولات میانی واکنش مایلارد از قبیل هیدروکسی متیل فورفورال، فورفورال، ردوکتون و ترکیبات تجزیه‌ای (مانند استول، دی‌استیل و پیرو آلدئید) تبدیل می‌شوند (Martins et al., 2000). از ویژگی‌های اصلی این مرحله می‌توان به تولید رنگ زرد، فلورسانس، طعم یا بد طعمی، دی‌اکسید کربن، افزایش در قدرت کاهندگی و جذب قوی در ناحیه نزدیک به فرابنفش اشاره داشت (Nursten, 2005; Wu et al., 2014). جذب فرابنفش در 294 نانومتر برای ارزیابی مقدار ترکیبات حد واسط استفاده می‌شود (Nooshkam and Madadlou, 2016b). در مرحله نهایی واکنش، پلیمریزاسیون محصولات میانی منجر به تشکیل پلیمرهای قهوه‌ای، نیتروژن دار (3-4 درصد نیتروژن) و ماکرو مولکول‌هایی به نام ملانویدین شده که دارای حداکثر جذب در 420 نانومتر می‌باشند (Vhangani and Van Wyk, 2013; Nursten, 2005).

3 High molecular weights

1 Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

2 Low molecular weights

جدول 1- تغییرات pH، محصولات میانی و نهایی واکنش مایلارد بین کیتوزان- اینولین/ فروکتوز/ گلوکز

تیمار	pH	پارامتر		
		شدت ترکیبات میانی (A 294 nm)	شدت قهوه‌ای شدن (A 420 nm)	نسبت جذبی (A 294nm/A 420nm)
کیتوزان - گلوکز ^{0**}	6/07 ± 0/01 ^a	1/767 ± 0/301 ^{a*}	0/294 ± 0/016 ^{a***}	5/991 ± 0/707 ^a
کیتوزان - گلوکز	5/94 ± 0/01 ^b			
کیتوزان - فروکتوز ⁰	6/08 ± 0/00 ^a			
کیتوزان - فروکتوز	5/98 ± 0/00 ^c	2/370 ± 0/119 ^b	0/224 ± 0/019 ^b	10/620 ± 0/376 ^b
کیتوزان - اینولین ⁰	6/07 ± 0/01 ^a			
کیتوزان - اینولین	5/93 ± 0/02 ^b	1/570 ± 0/033 ^a	0/409 ± 0/024 ^c	3/843 ± 0/143 ^c

* اختلاف بین تیمارها در هر ستون در سطح اطمینان 95 درصد ($p < 0.05$) معنی‌دار است.

** عدد صفر بیانگر محلول کیتوزان - ساکارید قبل از فرآیند حرارتی می‌باشد.

*** جذب به‌عنوان فاکتوری از غلظت ترکیبات بیان شده و جذب بیشتر بیانگر افزایش غلظت ترکیبات می‌باشد.

راحت‌تر رخ می‌دهند (He, 2015). حرارت دهی سامانه‌های پروتئین - قند احیاءکننده سبب تولید مقادیر قابل توجهی از محصولات میانی و نهایی می‌گردد (Vhangani and Van Wyk, 2013; Kim and Lee, 2009; Phisut and Jiraporn, 2013).

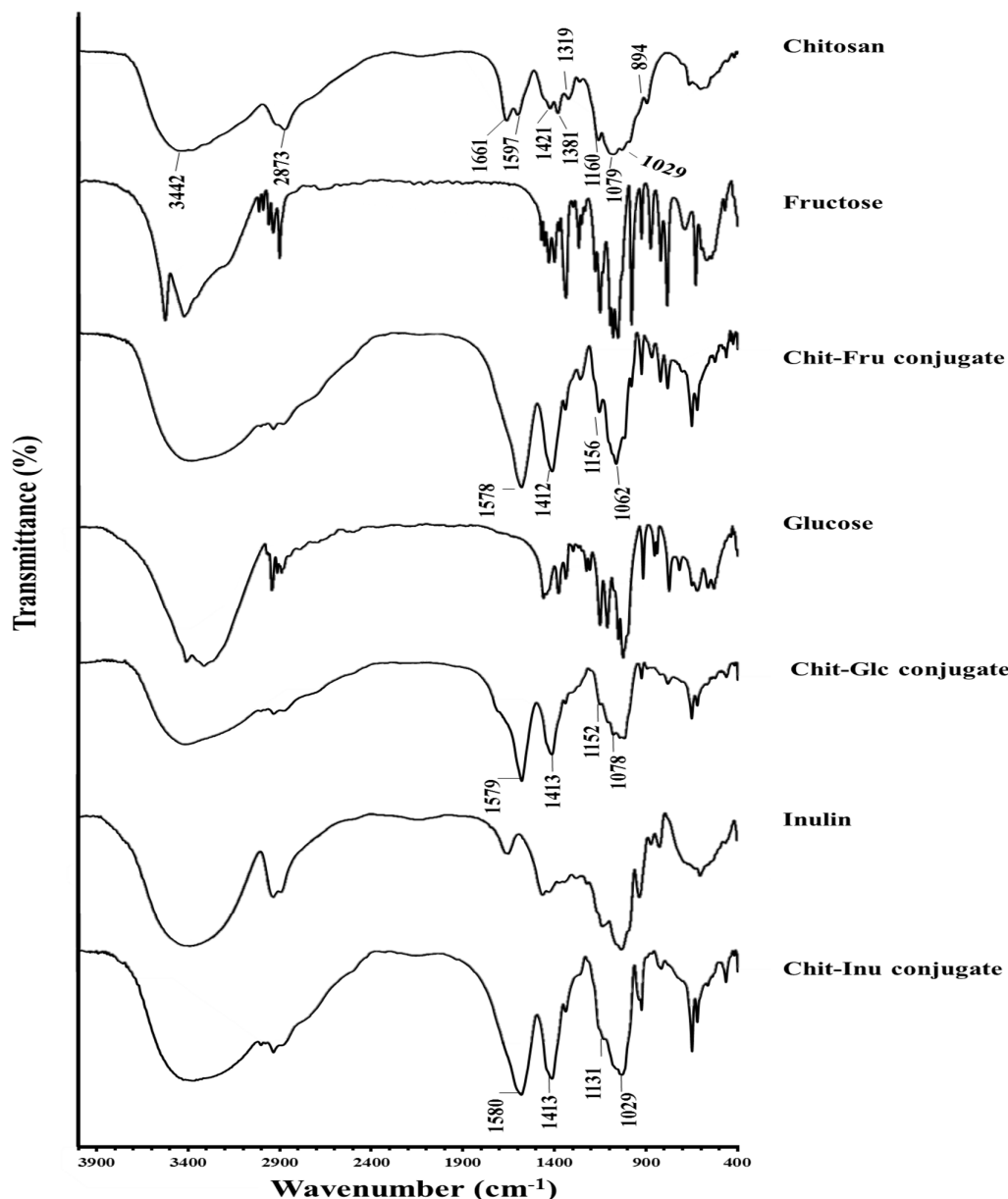
تغییرات ساختاری

طیف‌های FTIR نمونه‌های کانژوگه و قندهای احیاءکننده در شکل 1 نشان داده شده است. باندهای جذبی در حدود 3442 و 2873 بر سانتی‌متر در طیف کیتوزان مربوط به ارتعاش کششی -OH و

NH- و همچنین پیوندهای هیدروژنی درون و برون مولکولی در این پلیمر می‌باشند. پیک 1160 بر سانتی‌متر به تقارن کششی پیوند C-O-C و پیک‌های 1079 و 1029 بر سانتی‌متر به ارتعاش کششی پیوند C-O- نسبت داده می‌شوند. پیک‌های 1661 و 1597 بر سانتی‌متر به ترتیب بیانگر باندهای جذبی آمید I و گروه‌های آمین اولیه کیتوزان بوده که بعد از واکنش مایلارد دستخوش تغییراتی شده‌اند؛ پیک جذبی 1661 بر سانتی‌متر کاهش و به 1578 بر سانتی‌متر (در کانژوگه کیتوزان - فروکتوز)، 1579 بر سانتی‌متر (در کانژوگه کیتوزان - گلوکز) یا 1580 بر سانتی‌متر (در کانژوگه کیتوزان - اینولین) جابجا شد که بیانگر کشش گروه C-N و گروه پیوند دوگانه C=N- است و تشکیل باز شیف (پیوند دوگانه C=N) بین انتهای احیا کننده‌ی قند و گروه آمین کیتوزان را تأیید می‌کند. علاوه بر این، ظهور پیک جدید در حدود 1412 بر سانتی‌متر (در کانژوگه کیتوزان - فروکتوز) و 1413 بر سانتی‌متر (در کانژوگه کیتوزان - گلوکز/ اینولین) و همچنین ناپدید شدن باند 1597 بر سانتی‌متر کیتوزان بعد از واکنش بیانگر اتصال قند احیاءکننده با کیتوزان می‌باشد (Gullón et al., 2016; Zhang et al., 2015). نتایج مشابهی توسط Gullón و همکاران (2016) و Zhang

ترکیبات LWM غیراشباع با پیوند دوگانه مزدوج و همچنین ترکیبات HMW چند حلقه‌ای مانند پیریدین و پیروزین به‌عنوان عوامل ایجادکننده رنگ ملانوییدین‌ها شناخته شده‌اند (Labuza et al., 1998; Akagawa et al., 2002). مطابق نتایج جدول 1، واکنش مایلارد سبب تولید مقادیر قابل توجهی از محصولات میانی و نهایی شده است. بالاترین میزان ترکیبات حد واسط در سامانه کیتوزان - فروکتوز مشاهده شد و سامانه‌های کیتوزان - گلوکز و کیتوزان - اینولین به ترتیب میزان کمتری نشان دادند. در ارتباط با شدت قهوه‌ای شدن، بالاترین و کمترین میزان به ترتیب در کانژوگه‌های اینولین - کیتوزان و فروکتوز - کیتوزان مشاهده شد. میزان بالاتر محصولات میانی سامانه کیتوزان - فروکتوز نسبت به جز کیتوزان - گلوکز ممکن است ناشی از واکنش‌پذیری پایین‌تر آن باشد که با سرعت کمتری در واکنش شرکت کرده و فرصت کافی برای تبدیل این محصولات به ملانوییدین‌ها را پیدا نکرده است. در حالیکه در زمان یکسان و به دلیل واکنش‌پذیری بالاتر گلوکز، میزان بیشتری از محصولات میانی در سامانه گلوکز - کیتوزان به ترکیبات نهایی تبدیل شده‌اند که نسبت جذبی (A 294 nm/420 nm) این فرضیه را تأیید می‌کند. این نسبت شاخصی از پیشرفت پلیمریزاسیون (تبدیل محصولات حد واسط به نهایی) است و مقدار کمتر آن بیانگر پیشرفت پلیمریزاسیون بیشتر می‌باشد. در ارتباط با سامانه کیتوزان - اینولین، کمترین نسبت جذبی یا به عبارت دیگر بالاترین پیشرفت پلیمریزاسیون مشاهده شد؛ اینولین در وزن برابر دارای مولکول‌ها و متعاقباً گروه‌های کربونیل کمتری نسبت به گلوکز و فروکتوز است که این گروه‌ها در زمان کمتری با گروه آمین کیتوزان واکنش داده و در نتیجه فرصت کافی برای تبدیل ترکیبات حد واسط به ملانوییدین فراهم می‌شود. لازم به ذکر است که اینولین تحت دماهای بالا و در حضور آب متحمل هیدرولیز و شکستن پیوند گلیکوزیدی می‌شود که این تغییرات در واحدهای فروکتوز انتهایی

همکاران (2015) در مورد کانژوگه‌های کیتوزان - گلوکز و کیتوزان - فروکتوز گزارش شده است.



شکل 1- طیف FTIR کانژوگه‌های مایلارد کیتوزان - فروکتوز، کیتوزان - گلوکز و کیتوزان - اینولین

می‌گردد (Vhangani and Van Wyk, 2013). این آزمون به‌طور گسترده‌ای برای ارزیابی فعالیت ضداکسیدانی MRPs مورد استفاده قرار می‌گیرد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کانژوگه‌های مایلارد و نمونه‌های غیرکانژوگه در شکل 2 آورده شده است. قدرت کاهندگی سامانه‌های

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

آنتی‌اکسیدان‌ها قادر به احیای کمپلکس کلرید آهن - فری سیانید به آهن فروس (Fe²⁺) می‌باشند که غلظت آهن فروس تولیدی با اندازه‌گیری رنگ آبی پرل پروشن¹ محلول در 700 نانومتر پایش

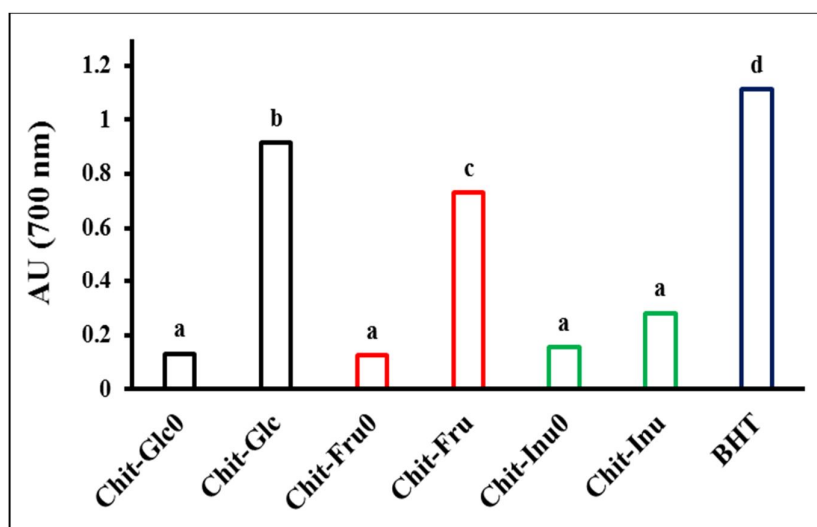
¹ Perl's Prussian blue color

بر این، پپتیدهای LMW قابلیت واکنش سریع تر و اتصال آسان تر با قندها را داشته و در نتیجه قادر به تولید ترکیبات فرار با ظرفیت آنتی اکسیدانی عالی هستند (Yu et al., 2018). به نظر می رسد که این فرضیه در مورد قندهای گلوکز، فروکتوز و اینولین نیز قابل تعمیم است؛ گلوکز واکنش پذیری بیشتر و متعاقباً ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری نشان داد. Jing و همکاران (2011) نشان دادند که حرارت دهی ترکیب فروکتوز یا اینولین با پروتئین های سفیده تخم مرغ (آلبومین، اوومو کوئید و لیزوزیم) سبب بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی پروتئین ها گردید. سامانه فروکتوز- لیزوزیم فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به نوع اینولین- لیزوزیم داشت؛ در حالیکه اوومو کوئید ترکیباتی با اثر آنتی اکسیدانی بالاتری با اینولین تولید کرد و گلایکه کردن آلبومین با فروکتوز یا اینولین تأثیر معنی داری بر فعالیت آنتی اکسیدانی نشان نداد. Phisut و Jiraporn (2013) با گلایکه کردن کیتوزان با قندهای مختلف بیان داشتند که ظرفیت آنتی اکسیدانی کانژوگه کیتوزان- گلوکز بالاتر از نوع کیتوزان- فروکتوز است که در راستای نتایج این تحقیق می باشد.

کیتوزان- ساکارید بعد از فرایند حرارتی بهبود یافت. اگرچه این افزایش در سامانه های کیتوزان- گلوکز و کیتوزان- فروکتوز معنی دار بود ($p < 0.05$)، اما کانژوگه ی اینولین- کیتوزان اختلاف معنی داری با نمونه کنترل نشان نداد ($p > 0.05$).

فعالیت کاهندگی نمونه های کانژوگه کمتر از آنتی اکسیدان سنتزی BHT بود و از بین سامانه های کانژوگه، کیتوزان- گلوکز نزدیک ترین فعالیت آنتی کسیدانی به BHT را نشان داد. گروه های هیدروکسیل و پیرول MRPs نقش مهمی در فعالیت احیاء کنندگی این ترکیبات از طریق انتقال الکترون ایفا می کنند (Vhangani and Van Wyk, 2013; Jiang et al., 2013). فعالیت شکستن زنجیره رادیکالی ردوکتون های تولید شده در مرحله حد واسط به واسطه دادن یک اتم هیدروژن، به عنوان سازوکار دیگر فعالیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات گزارش شده است (Wang et al., 2013).

در مطالعه ای مشخص شد که MRPs به دست آمده از سامانه های پروتئین- قند دارای فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری نسبت به سامانه های اسید آمینه- قند می باشند (Lingnert and Eriksson, 1980). علاوه



شکل 2- فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های غیر کانژوگه (کنترل)، کانژوگه (Chit-Glc، کیتوزان- گلوکز؛ Chit-Fru، کیتوزان- فروکتوز؛ Chit-Inu، کیتوزان- اینولین) و BHT. عدد صفر بیانگر نمونه کنترل می باشد.

مخلوط کیتوزان- گلوکز و کانژوگه آن به دست آمد. فعالیت ضد میکروبی مخلوط کیتوزان و ساکارید قبل از حرارت دهی (زمان صفر) به دلیل اثر ضد میکروبی پلی ساکارید کیتوزان می باشد؛ این ترکیب دارای گروه آمین پروتونه شده بوده که با تشکیل نیروهای الکتروستاتیکی با گروه های باردار منفی در سطح سلول، نقش ضد میکروبی خود را در برابر باکتری ها و قارچ ها ایفا می کند (Beverly et al., 2008). به طور کلی سه سازوکار ضد میکروبی برای کیتوزان پیشنهاد شده است؛ (1) این ترکیب به دلیل گروه آمین با بار الکتریکی مثبت قابلیت ایجاد کمپلکس با

فعالیت ضد میکروبی

نتایج حداقل غلظت مهار کنندگی و کشندگی نمونه های کانژوگه و غیر کانژوگه در شرایط برون تنی در جدول 2 گزارش شده است. کانژوگه های کیتوزان- فروکتوز و کیتوزان- اینولین حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی کمتری در برابر باکتری ها، آسپرژیلوس نایچر و کاندیدا آلبیکنس نسبت به مخلوط غیر حرارت دیده نشان دادند؛ نمونه های کانژوگه اثر مهار کنندگی و کشندگی خود را در غلظت کمتری نشان دادند. با این حال، نتایج یکسانی در ارتباط با فعالیت ضد میکروبی

ترکیبات آنیونی مانند پروتئین‌ها و لیپولی ساکاریدهای واقع در دیواره سلولی میکروارگانیسم را داشته و از این طریق باعث اختلال در نفوذپذیری دیواره و نشت ترکیبات ضروری به بیرون سلول می‌شود، (2) کیتوزان قادر به از دسترس خارج کردن مواد مغذی مورد نیاز سلول (به دلیل ویژگی شلاته‌کنندگی) و جلوگیری از ورود آن‌ها به داخل سلول است و (3) در نهایت ممکن است بعد از ورود به داخل سلول و تشکیل کمپلکس با DNA میکروارگانیسم، از سنتز ترکیبات ضروری سلول مانند RNA و پروتئین جلوگیری کند (Prashanth and Tharanathan, 2007).

گزارش شده است که حرارت‌دهی محلول حاوی پروتئین و قند احیاءکننده سبب تولید ترکیبات نهایی قهوه‌ای رنگ (ملانوئیدین) با

فعالیت ضد میکروبی می‌شود. اثر ضد میکروبی ملانوئیدین‌ها تابع غلظت این ترکیبات زیست فعال می‌باشد؛ بطوریکه نقش باکتریواستاتیکی² و باکتری‌کشی³ خود را به ترتیب در غلظت‌های کم و زیاد ایفا می‌کنند. ویژگی ضد میکروبی ملانوئیدین‌ها به قابلیت شلاته‌کنندگی فلز آن‌ها بر می‌گردد. در غلظت پایین، فلز آهن که برای رشد میکروارگانیسم‌ها ضروری است را از محیط کشت جذب کرده و سبب توقف رشد آن‌ها می‌شود (اثر باکتریواستاتیکی)، در حالیکه غلظت بالای آن در محیط با شلاته کردن یون منیزیم (Mg^{2+}) از غشای خارجی، ناپایداری غشاهای داخلی و خارجی را تسریع می‌کند (Rufián-Henares and Morales, 2008b; Rufián-Henares and de la Cueva, 2009).

جدول 2- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی نمونه‌های کانژوگه و غیر کانژوگه در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا.

میکروارگانیسم						تیمار
<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	
حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (میلی گرم در میلی لیتر)						
15	7/5	7/5	7/5	7/5	7/5	کیتوزان - گلوکز 0*
15	7/5	7/5	7/5	7/5	7/5	کیتوزان - گلوکز
-	-	15	15	15	15	کیتوزان - فروکتوز 0
15	7/5	7/5	7/5	7/5	7/5	کیتوزان - فروکتوز
15	15	15	15	15	15	کیتوزان - اینولین 0
7/5	7/5	7/5	7/5	7/5	7/5	کیتوزان - اینولین
حداقل غلظت کشندگی (میلی گرم در میلی لیتر)						
≥ 15	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	کیتوزان - گلوکز 0
≥ 15	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	کیتوزان - گلوکز
> 15	> 15	≥ 15	≥ 15	≥ 15	≥ 15	کیتوزان - فروکتوز 0
≥ 15	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	کیتوزان - فروکتوز
≥ 15	≥ 15	≥ 15	≥ 15	≥ 15	≥ 15	کیتوزان - اینولین 0
≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	≥ 7/5	کیتوزان - اینولین

* عدد صفر بیانگر محلول کیتوزان - ساکارید قبل از فرآیند حرارتی می‌باشد.

برشته، منجر به تشکیل ملانوئیدین‌هایی با ویژگی ضد میکروبی بالاتر شد (Rufián-Henares and de la Cueva, 2009; Rufián-Henares and Morales, 2008a; Rufián-Henares and Morales, 2008b; Rufián-Henares and Morales, 2006).

در این پژوهش، با اینکه حرارت‌دهی مخلوط کیتوزان - گلوکز سبب تولید کانژوگه‌هایی با ترکیبات قهوه‌ای رنگ (شاخص ترکیبات نهایی و ملانوئیدین) معنی‌داری گردید، این ترکیب حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی مشابهی با نمونه غیرکانژوگه نشان داد. این حالت ممکن است ناشی از برهمکنش‌های عرضی بیشتر در این سامانه باشد؛ با توجه

در مطالعاتی که توسط Rufián-Henares و همکاران (2009) انجام شد، اثر ضد میکروبی ملانوئیدین‌های به‌دست آمده از مواد غذایی مانند قهوه و همچنین سامانه‌های مدل حرارت دیده (24 ساعت در دمای 100 درجه سلسیوس) در برابر باکتری گرم مثبت/استافیلوکوکوس/اورئوس نسبت به نوع گرم منفی/شرشی کلی بالاتر بود. علاوه بر این، ملانوئیدین‌های HMW و تیره‌رنگ بیسکویت دارای فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به انواع LMW در برابر/شرشی‌کلی بودند و شدت حرارت‌دهی بالاتر به‌کار رفته در تولید محصولات قهوه

کاتابولیزکننده کربوهیدرات در میکروارگانیسم‌ها ایفا می‌کنند (Muppalla et al., 2012).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، کیتوزان با استفاده از واکنش مایلارد با اینولین، فروکتوز و گلوکز گلیکوزیله شد. کانژوگه شدن کیتوزان با کاهش pH، افزایش شدت محصولات حد واسطه و نهایی و همچنین تغییرات ساختاری ایجاد شده در کیتوزان تأیید گردید. واکنش کانژوگاسیون سبب تولید محصولاتی با ویژگی آنتی‌اکسیدانی قابل توجه شد. علاوه بر این، فعالیت ضد میکروبی سامانه‌های کیتوزان - اینولین / فروکتوز بعد از حرارت‌دهی افزایش یافت و این کانژوگه‌ها، حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی کمتری نسبت به نمونه‌های غیر کانژوگه نشان دادند. با توجه به نتایج این مطالعه، می‌توان از واکنش مایلارد جهت بهبود ویژگی‌های بیولوژیکی کیتوزان و تولید محصولاتی زیست فعال با فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجه استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت‌های مالی در اجرای این طرح پژوهشی (کد 47380) صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

به واکنش‌پذیری بالای آن، مقدار بالایی از ملانوییدین‌ها تولید شده و ادامه حرارت‌دهی سبب ایجاد اتصالات عرضی بیشتری بین ملانوییدین‌ها شده است که کاهش گروه‌های شلاته‌کننده فلز در سطح آن‌ها و در نهایت کاهش فعالیت ضد میکروبی را سبب شده است. در سامانه کیتوزان-فروکتوز، با اینکه مقدار ترکیبات نهایی (Abs 420 nm) کمتری در مقایسه با سامانه کیتوزان-گلوکز داشت، اما اثر باکتریواستاتیکی و باکتری کشی خود را در غلظت کمتری نسبت به نمونه غیر کانژوگه نشان داد. اثر ضد میکروبی کانژوگه اینولین - کیتوزان در راستای نتایج شدت قهوه‌ای شدن می‌باشد. به نظر می‌رسد که اینولین به دلیل وزن مولکولی بالاتر نسبت به دو مونوساکارید فروکتوز و گلوکز، کانژوگه‌هایی بزرگ‌تر به همراه گروه‌های شلاته‌کننده بیشتر تولید کرده است. علاوه بر این، لازم به ذکر است که بخشی از اثر ضد میکروبی کانژوگه کیتوزان - اینولین ناشی از ویژگی ضدباکتریایی اینولین است. مطابق نتایج، می‌توان بیان نمود که سامانه‌های کانژوگه اینولین - کیتوزان و فروکتوز - کیتوزان را می‌توان به‌عنوان مواد ضد میکروب بالقوه به کار برد. در راستای نتایج این پژوهش، گزارش شده است که ترکیبات حاصل از واکنش مایلارد اثر ضدباکتریایی خود را از طریق ویژگی آنتی‌اکسیدانی، فعالیت سطحی بالاتر (ناپایدار کردن غشای خارجی) و جلوگیری از جذب سرین، اکسیژن، گلوکز و آنزیم‌های

منابع

- Akagawa, M., Sasaki, T., & Suyama, K., 2002, Oxidative deamination of lysine residue in plasma protein of diabetic rats. *The FEBS Journal*, 269(22), 5451-5458.
- Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Mohebbi, M., 2017, Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculus*) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2), 847-863.
- Benjakul, S., Lertittikul, W., & Bauer, F., 2005, Antioxidant activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-sugar model system. *Food Chemistry*, 93(2), 189-196.
- Beverly, R. L., Janes, M. E., Prinyawiwatula, W., & No, H. K., 2008, Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 25(3), 534-537.
- Chang, H. L., Chen, Y. C., & Tan, F. J., 2011, Antioxidative properties of a chitosan-glucose Maillard reaction product and its effect on pork qualities during refrigerated storage. *Food chemistry*, 124(2), 589-595.
- de Oliveira, F. C., Coimbra, J. S. D. R., de Oliveira, E. B., Zuñiga, A. D. G., & Rojas, E. E. G., 2016, Food protein-polysaccharide conjugates obtained via the maillard reaction: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(7), 1108-1125.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., & Debevere, J., 2004, Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food microbiology*, 21(6), 703-714.
- Gullón, B., Montenegro, M. I., Ruiz-Matute, A. I., Cardelle-Cobas, A., Corzo, N., & Pintado, M. E., 2016, Synthesis, optimization and structural characterization of a chitosan-glucose derivative obtained by the Maillard reaction. *Carbohydrate polymers*, 137, 382-389.
- He, Y., 2015, *Improved heat stability of whey protein isolate by glycation with inulin*. University of Missouri-Columbia.
- Jiang, Z., Rai, D. K., O'Connor, P. M., & Brodtkorb, A., 2013, Heat-induced Maillard reaction of the tripeptide IPP and ribose: Structural characterization and implication on bioactivity. *Food research international*, 50(1), 266-274.
- Jing, H., Yap, M., Wong, P. Y., & Kitts, D. D., 2011, Comparison of physicochemical and antioxidant properties of egg-white proteins and fructose and inulin Maillard reaction products. *Food and Bioprocess Technology*, 4(8), 1489-1496.
- Kalyani Nair, K., Kharb, S., & Thompson, D. K., 2010, Inulin dietary fiber with functional and health attributes—a review. *Food Reviews International*, 26(2), 189-203.
- Karimi, R., Azizi, M. H., Ghasemlou, M., & Vaziri, M., 2015, Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers*, 119, 85-100.

- Kim, J. S., & Lee, Y. S., 2009, Study of Maillard reaction products derived from aqueous model systems with different peptide chain lengths. *Food Chemistry*, 116(4), 846-853.
- Kumar, M. N. R., 2000, A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and functional polymers*, 46(1), 1-27.
- Labuza, T. P., Monnier, V., Baynes, J., & O'Brien, J. (Eds.), 1998, *Maillard reactions in chemistry, food and health*. Elsevier.
- Li, X., Shi, X., Jin, Y., Ding, F., & Du, Y., 2013, Controllable antioxidative xylan-chitosan Maillard reaction products used for lipid food storage. *Carbohydrate polymers*, 91(1), 428-433.
- Lingnert, H., & Eriksson, C. E., 1980, Antioxidative Maillard reaction products. II. Products from sugars and peptides or protein hydrolysates. *Journal of Food Processing and Preservation*, 4(3), 173-181.
- Liu, S. C., Yang, D. J., Jin, S. Y., Hsu, C. H., & Chen, S. L., 2008, Kinetics of color development, pH decreasing, and anti-oxidative activity reduction of Maillard reaction in galactose/glycine model systems. *Food Chemistry*, 108(2), 533-541.
- Lopes, S. M., Krausová, G., Rada, V., Gonçalves, J. E., Gonçalves, R. A., & de Oliveira, A. J., 2015, Isolation and characterization of inulin with a high degree of polymerization from roots of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Carbohydrate research*, 411, 15-21.
- Martins, S. I., Jongen, W. M., & Van Boekel, M. A., 2000, A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science & Technology*, 11(9), 364-373.
- Matsushashi, S., & Kume, T., 1997, Enhancement of antimicrobial activity of chitosan by irradiation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73(2), 237-241.
- Mcdevitt-Pugh, M., & Meyer, D., 2005, Low glycemic index products with inulin to support weight management. *Wellness Foods Europe*, 34, 20-24.
- Muppalla, S. R., Sonavale, R., Chawla, S. P., & Sharma, A., 2012, Functional properties of nisin-carbohydrate conjugates formed by radiation induced Maillard reaction. *Radiation Physics and Chemistry*, 81(12), 1917-1922.
- Mutanda, T., Mokoena, M. P., Olaniran, A. O., Wilhelmi, B. S., & Whiteley, C. G., 2014, Microbial enzymatic production and applications of short-chain fructooligosaccharides and inulooligosaccharides: recent advances and current perspectives. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 41(6), 893-906.
- Nooshkam, M., & Madadlou, A., 2016a, Maillard conjugation of lactulose with potentially bioactive peptides. *Food Chemistry*, 192, 831-836.
- Nooshkam, M., & Madadlou, A., 2016b, Microwave-assisted isomerisation of lactose to lactulose and Maillard conjugation of lactulose and lactose with whey proteins and peptides. *Food chemistry*, 200, 1-9.
- Nursten, H. E., 2005, *The Maillard reaction: chemistry, biochemistry, and implications*. Royal Society of Chemistry.
- O'Brien, J., Morrissey, P. A., & Ames, J. M., 1989, Nutritional and toxicological aspects of the Maillard browning reaction in foods. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 28(3), 211-248.
- Phisut, N., & Jiraporn, B., 2013, Characteristics and antioxidant activity of Maillard reaction products derived from chitosan-sugar solution. *International Food Research Journal*, 20(3).
- Prashanth, K. H., & Tharanathan, R. N., 2007, Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential—an overview. *Trends in food science & technology*, 18(3), 117-131.
- Rufián-Henares, J. A., & de la Cueva, S. P., 2009, Antimicrobial Activity of Coffee Melanoidins. A Study of Their Metal-Chelating Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 432-438.
- Rufián-Henares, J. A., & Morales, F. J., 2006, A new application of a commercial microtiter plate-based assay for assessing the antimicrobial activity of Maillard reaction products. *Food Research International*, 39(1), 33-39.
- Rufián-Henares, J. A., & Morales, F. J., 2008a, Microtiter plate-based assay for screening antimicrobial activity of melanoidins against *E. coli* and *S. aureus*. *Food chemistry*, 111(4), 1069-1074.
- Rufián-Henares, J. A., & Morales, F. J., 2008b, Antimicrobial activity of melanoidins against *Escherichia coli* is mediated by a membrane-damage mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), 2357-2362.
- Schaller-Povolny, L. A., & Smith, D. E., 1999, Sensory attributes and storage life of reduced fat ice cream as related to inulin content. *Journal of Food Science*, 64(3), 555-559.
- Shahidi, F., 2000, Antioxidants in food and food antioxidants. *Food/nahrung*, 44(3), 158-163.
- Vhangani, L. N., & Van Wyk, J., 2013, Antioxidant activity of Maillard reaction products (MRPs) derived from fructose-lysine and ribose-lysine model systems. *Food Chemistry*, 137(1), 92-98.
- Wang, H. Y., Qian, H., & Yao, W. R., 2011, Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry*, 128(3), 573-584.
- Wang, W. Q., Bao, Y. H., & Chen, Y., 2013, Characteristics and antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products from interactions in a whey protein isolate and sugars system. *Food Chemistry*, 139(1), 355-361.
- Wang, X., Du, Y., & Liu, H., 2004, Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan-Zn complex. *Carbohydrate polymers*, 56(1), 21-26.
- Wang, X., Du, Y., Fan, L., Liu, H., & Hu, Y., 2005, Chitosan-metal complexes as antimicrobial agent: synthesis, characterization and structure-activity study. *Polymer Bulletin*, 55(1-2), 105-113.

- Wu, S., Hu, J., Wei, L., Du, Y., Shi, X., & Zhang, L., 2014, Antioxidant and antimicrobial activity of Maillard reaction products from xylan with chitosan/ chito oligomer/ glucosamine hydrochloride/ taurine model systems. *Food Chemistry*, 148, 196-203.
- Yu, M., He, S., Tang, M., Zhang, Z., Zhu, Y., & Sun, H., 2018, Antioxidant activity and sensory characteristics of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of soybean meal hydrolysate. *Food Chemistry*, 243, 249-257.
- Yuan, D., Xu, Y., Wang, C., Li, Y., Li, F., Zhou, Y., & Jiang, Y., 2015, Comparison of anti-browning ability and characteristics of the fractionated Maillard reaction products with different polarities. *Journal of Food Science and Technology*, 52(11), 7163-7172.
- Zhang, H., Yang, J., & Zhao, Y., 2015, High intensity ultrasound assisted heating to improve solubility, antioxidant and antibacterial properties of chitosan-fructose Maillard reaction products. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 253-262.
- Zhong, N. J., Liu, G. Q., Zhao, X. H., Gao, Y. Q., Li, L., & Li, B., 2015, Lipid Peroxidation Inhibition Activity of Maillard Reaction Products Derived from Sugar-amino Acid Model Systems. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 9(5), 393-397.



Chemical modification of chitosan through non-enzymatic glycosylation reaction to improve its antimicrobial and anti-oxidative properties

F. Shahidi^{*1}, F. Tabatabaei Yazdi¹, M. Nooshkam², Z. Zareie³, F. Falah³

Received: 2018.10.04

Accepted: 2019.03.04

Introduction: Lipid oxidation leads to the generation of off-flavors and potential toxic compounds. Synthetic antioxidants are frequently applied for inhibiting this reaction, however; there is a concern regarding to the potent toxic effects of synthetic antioxidants on human health. The non-enzymatic glycosylation reaction (Maillard reaction) has been broadly used to ameliorate the biological and functional features of proteins and polysaccharides. The Maillard reaction produces products with versatile functions such as antioxidant, antimicrobial, antihypertensive, anti-browning, and prebiotic properties. In this regard, the Maillard reaction products (MRPs) can be used in the food industry to inhibit the oxidation reaction due to their superb antioxidant effect. In this study, chitosan was glycosylated with inulin, fructose, and glucose. Chitosan is a chitin derivative with cationic nature having antimicrobial, antioxidant, metal chelation, and film-forming features. Inulin is recognized as a prebiotic sugar with vast applications in food and pharmaceutical sciences. The purpose of this study was to chemically modify chitosan through the Maillard reaction in order to boost its antioxidant and antimicrobial properties.

Materials and methods: Chitosan (0.5% w/v) was dissolved in 1.0% v/v acetic acid solution followed by stirring for 1.0 h at room temperature. Afterwards, sugars inulin, glucose, and fructose were separately added to the chitosan solution at final concentration of 1.0% w/v. The obtained solutions were then stirred until complete sugar dissolution. The pH of solution was adjusted to 6.07 by adding 2.0 M sodium hydroxide and then the chitosan-sugar Maillard conjugates were fabricated through autoclaving the solutions at 121 °C. Changes in pH after the reaction were measured using a pH meter. The extent of the Maillard reaction was estimated via measuring the absorbance of the conjugated solutions at 294 nm (the intermediate products) and 420 nm (final products). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy at transmission mode and 400-4000 cm⁻¹ was employed to evaluate the structural changes of chitosan upon conjugation. Antioxidant activity of the conjugates was evaluated based on the reducing power assay. One mL of the samples was charged with 1.0 mL of distilled water and 1.0 mL of potassium ferricyanide (1.0% w/v). The solution was mixed and incubated at 50 °C for 20 min. After adding 2.5 mL of tri-chloroacetic solution (10% w/v), the obtained solution was centrifuged at 5000 g for 5.0 min. Afterwards, 2.0 mL of the supernatant was mixed with 2.0 mL of distilled water and 1.0 mL of ferric chloride (0.1% w/v). The solution was stand for 10 min at ambient temperature and then its absorbance was recorded at 700 nm. Antimicrobial effect of the conjugates against pathogenic microorganisms (*E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *A. niger*, and *C. albicans*) was measured according to the minimum inhibitory (MIC) and microbiocidal (MBC) concentrations. SPSS software (version 21) and one-way ANOVA were applied for data analysis. Duncan's multiple range test was employed to determine the differences between means.

Results & discussion: The Maillard reaction led to a significant decrement in pH value of chitosan-saccharide systems, mainly due to the covalent coupling of amino groups of chitosan to carbonyl groups of reducing sugars in conjugation with the production of acetic and formic acids. The highest intermediate compounds ($A_{294\text{nm}}$) and lowest browning intensity ($A_{420\text{nm}}$) observed in chitosan-fructose conjugate, which was likely attributed to the lower reactivity of fructose. Chitosan-inulin conjugate presented the highest $A_{420\text{nm}}$ and lowest intermediate-to-final ratio ($A_{294\text{nm}}/A_{420\text{nm}}$), probably due to the lower inulin molecules and subsequently carbonyl groups compared to fructose and glucose. These groups may react with amino groups of chitosan at initial reaction times, leading more conversion rate of the intermediate compounds to the final ones. FTIR spectra of the chitosan and conjugates revealed that absorbance peak at 1661 cm⁻¹ in chitosan spectrum decreased and shifted to 1578 cm⁻¹ (in chitosan-fructose conjugate), 1579 cm⁻¹ (in chitosan-glucose conjugate), and 1580 cm⁻¹ (in chitosan-inulin conjugate), indicating the stretching C-N group and -C=N group and the formation of Schiff base (-C=N) between reducing end of the saccharides and amino groups of chitosan. Reducing power of the chitosan-saccharide systems improved after the thermal process. Although, chitosan-glucose and chitosan-fructose conjugates had significantly higher reducing power than unconjugated counterparts, but chitosan-inulin conjugate showed

1, 2 and 3. Professor, PhD student and MSc student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran .

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

non-significantly improved antioxidant activity compared to its non-heated mixture. Antioxidant activity of the Maillard conjugates was ascribed from the electron donating ability of their hydroxyl and pyrrole groups. The conjugates had lower MIC and MBC in comparison to their unconjugated pairs, except for chitosan-glucose conjugate, which showed no differences in MIC and MBC compared with its non-heated mixture. Antimicrobial property of the Maillard products, especially melanoidins has been attributed to their metal chelating features; melanoidins exert a bacteriostatic effect at low concentration and bactericidal effect at high levels through sequestering ionic iron from medium and magnesium from outer membrane, leading to the cell membranes destabilization. Additionally, antioxidant capacity, high surface activity, and inhibiting effect towards catabolic enzymes have been reported as another antimicrobial mechanisms of the Maillard products. In general, it can be concluded that chitosan-saccharide Maillard-based conjugates, particularly inulin-chitosan one could be used in the food sector as a novel prebiotic-based active bio-compound with antioxidant and antimicrobial features.

Keywords: Inulin; Antioxidant; Antimicrobial; Chitosan; Maillard reaction.



بررسی تاثیر افزودن دو صمغ لوبیای خرنوب و زانتان بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و ظرفیت نگهداری آب ماست سین‌بیوتیک شتر

ژاله سادات لاجوردی¹- محمد سعید یارمند²- زهرا امام جمعه^{3*} - امیر نیاسری نسلجی⁴

تاریخ دریافت: 1394/07/15

تاریخ پذیرش: 1395/10/20

چکیده

در این تحقیق تاثیر دو صمغ زانتان و لوبیای خرنوب بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ماست فراسودمند سین‌بیوتیک از شیر شتر به همراه β -گلوکان استخراج شده از جو دوسر مورد مطالعه قرار گرفت. متغیرهای مورد بررسی شامل: صمغ لوبیای خرنوب (LBG) و صمغ زانتان (به نسبت 1:1) هر کدام در سه سطح 0/1، 0/2 و 0/3 % و β -گلوکان در سه سطح 1/5، 2 و 2/5 % به شیر با درصد چربی مشخص (1/9%) و باکتری‌های پروبیوتیک تلقیح شده به میزان (0/5%) افزوده شد. نتایج طبق روش آماری سطح پاسخ در روزهای اول، هفتم و چهاردهم مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مطابق با نتایج این بررسی ظرفیت نگهداری آب، با افزایش میزان صمغ‌ها (0/2%) و β -گلوکان (1/73%) افزایش یافته ولی گذشت زمان موجب کاهش آن می‌گردد. در صورتی که از درصدهای بالای β -گلوکان (1/6%) در تولید ماست فراسودمند سین‌بیوتیک استفاده شود، در روزهای اولیه تولید (از اولین روز تولید تا روز هفتم)، ماست حاوی تعداد مطلوبی از باکتری های زنده پروبیوتیک ($8/2 \times 10^7$ تا 6×10^7 cfu/mL) است. ماست فراسودمند سین‌بیوتیک تولید شده از شیر شتر دارای ویژگی‌های فیزیکی مطلوب و بافت بسیار مناسبی است و بر اساس مواد مصرفی، دارای اثرات مطلوبی بر سلامتی مصرف‌کنندگان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: صمغ زانتان، صمغ لوبیای خرنوب، β -گلوکان، شیر شتر، ماست

مقدمه

(Nasirpour, 2013; Hansen, 1993).

صمغ زانتان یک پلی‌ساکارید خارج سلولی بوده که توسط *Zantamonas کامپستریس*⁷ طی فرآیند تخمیر هوازی تولید می‌شود. زانتان در آب سرد محلول بوده و محلول‌های ایجاد شده به شدت سودوپلاستیک هستند (Jasim et al., 2004). زانتان واکنش‌های هم افزایی با صمغ گوار و LBG دارد، به‌طوری‌که در غلظت‌های کم در حضور LBG گرانروی افزایش می‌یابد (Ramirez-Figueroa et al., 2002; Marcotte, et al., 2001; Garcia-Ochoa et al., 2000; Urlacher et al., 1997). خاصیت سودوپلاستیته صمغ زانتان باعث می‌شود مواد غذایی احساس دهانی بهتری داشته باشند. این صمغ با تاثیرات مطلوبی که بر مواد غذایی دارد، باعث می‌گردد که محصولات کیفیت اولیه خود را بهتر حفظ کند.

اثرات هم‌افزایی بین زانتان و گالاتانومان‌ها از قبیل LBG موجب افزایش گرانروی و یا تشدید ژله‌ای شدن می‌شود. به دلیل اینکه LBG نسبت مانوز به گالاتانوز آن در حدود 3/5 به 1 است با شدت زیادی با زانتان واکنش می‌دهد (Campolongo et al., 2005).

امروزه با افزایش آگاهی و اطلاعات مصرف‌کنندگان و آشنایی بیشتر آنها با مضرات غذاهای ناسالم مصرفی، درخواست برای محصولات گیاهی و با ارزش غذایی بالا که بتواند جایگزین مواد مضر گردد، افزایش یافته است. در این پژوهش به بررسی اثر دو صمغ لوبیای خرنوب (LBG)⁵ و صمغ زانتان به همراه β -گلوکان در تولید ماست فراسودمند سین‌بیوتیک از شیر شتر پرداخته شده است. صمغ (LBG) از لوبیای لوکاست یا دانه خرنوب به‌دست می‌آید و از آن جهت ایجاد گرانروی⁶ و اتصال و پایداری در سامانه‌های مختلف غذایی نظیر ماست، بستنی، سوسیس‌ها و غیره استفاده می‌شود

- 1، 2 و 3- به‌ترتیب دانش‌آموخته، دانشیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.
- 4- استاد، گروه علوم پایه، دانشکده درمانگاهی، دانشگاه تهران دامپزشکی.

(* - نویسنده مسئول: Email: emamj@ut.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijfstrj.v1395i0.50416

5 Locust Bean Gum

6 Viscosity

7 Compestris Xanthomonas

بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیقات لاجوردی و همکاران (1393) بر روی ماست قالبی سین بیوتیک از شیر شتر، ماست تولیدی دارای بافت بسیار مناسبی نبود و می بایست در تحقیقات آینده این مشکل حل می شد بنابراین جهت حل این مشکل در این پژوهش از صمغ زانتان به همراه صمغ لوبیای خرنوب (LBG) مشابه تحقیقات (El-Sayed et al., 2002; Figueroa et al., 2002) جهت بهبود بافت محصول تولیدی استفاده شد. همانطور که در کلیات توضیح داده شد و طبق نتایج Hansen (1993) صمغ لوبیای خرنوب به عنوان صمغ کمکی در کنار صمغ های دیگر (مخصوصاً صمغ زانتان) موجب بهبود بیشتر گرانروی و آب اندازی محصول می گردد. از طرف دیگر به دلیل اینکه در آزمایشات بعدی قصد بهبود طعم و خواص حسی محصول مد نظر گرفته شده است، از صمغ لوبیای خرنوب استفاده کردیم زیرا بر اساس تحقیقات Decourcellea و همکاران (2004) این صمغ از توانایی بالایی در نگهداری عطر و طعم برخوردار می باشد.

در این مطالعه سعی بر آن بوده تا با استفاده از β -گلوکان جو دوسر به همراه تلقیح مقدار مناسبی از باکتری های پروبیوتیک به شیر شتر، یک محصول لبنی فراسودمند سین بیوتیک تولید شود. در این محصولات شیر شتر به عنوان ماده اصلی و پایه می باشد، بنابراین این محصول دارای ارزش تغذیه ای بالا به دلیل وجود ترکیباتی از قبیل: ماده شبه انسولین، لاکتوز کمتر، ایمونوگلوبولین ها و لاکتوفرین، آنتی اکسیدان ها و عوامل ضد میکروبی و سایر مواد مغذی دیگر می باشد (لاجوردی و همکاران، 1393؛ نیاسری نسلجی و همکاران، 1390). همانطور که در قبل گفته شد با تولید ماست سین بیوتیک می توان یک محصول فراسودمند را به سبد تغذیه مردم وارد کرد. ماست سین بیوتیک از ترکیب باکتری های پروبیوتیک به همراه عوامل پری بیوتیک تولید می گردد، به طوریکه می بایست در محصول نهایی حدود $10^7 - 10^8$ cfu/mL از باکتری ها به صورت زنده مورد استفاده قرار گیرند تا اثرات سلامت بخش در میزبان خود بروز دهند (فرجی و

همکاران، 1391). β -گلوکان که یک کربوهیدرات پیچیده غیر قابل هضم (Theuvsissen et al., 2008) با خواص تغذیه ای بسیار زیاد از جمله: بهبود فعالیت روده ها (وظیفه فیبرها)، محرک سامانه ایمنی بدن، مقوی قلب، کاهش کلسترول و قند خون (Xue et al., 2013; Chao et al., 2013)، را به عنوان عامل پری بیوتیک و بهبود دهنده بافت مورد استفاده قرار گرفته و موجب بهبود فعالیت ریزاندامگان روده ای شده و زنده ماننی آن ها را افزایش می دهند و در نتیجه تاثیر خوبی بر سلامت مصرف کننده دارند (لاجوردی و همکاران، 1393)

در این مطالعه هدف بر آن بوده تا تاثیر دو صمغ زانتان و لوبیای خرنوب را بر خصوصیات شیمیایی و بافت ماست به دست آمده از شیر شتر بررسی کنیم. در این تحقیق سعی شد با استفاده از β -گلوکان جو دوسر به همراه تلقیح مقدار مناسبی از باکتری های پروبیوتیک، محصولی با کیفیت بافتی بسیار مطلوب و خواص غذایی مناسب در دسترس مصرف کنندگان قرار داده شود. ماست تولیدی علاوه بر ظرفیت نگهداری آب بالا و بافت مناسب، به دلیل وجود تعداد مناسب باکتری های پروبیوتیک در زمان مصرف و سایر افزودنی های با خواص سلامت بخشی بالا از قبیل β -گلوکان جو دوسر و صمغ ها در محصول، دارای ارزش تغذیه ای بالایی می باشد.

مواد و روش ها

شیر شتر مورد استفاده با ترکیبات مشخص (جدول 1) از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. کارخانه پگاه تهران آغازگر پروبیوتیک تجاری (ABY1, Cristian Hansen, Hørsholm, Denmark) و همچنین صمغ زانتان و صمغ لوبیای خرنوب (Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) در اختیار این پژوهش قرار داد. جو دو سر از موسسه تهیه و فرآوری گیاهان دارویی طارونه استان قم خریداری شد و β -گلوکان را طبق روش (Moura et al., 2011) از جو دوسر استخراج کردیم.

جدول 1- آنالیز شیمیایی شیر شتر

فاکتور	ماده خشک (%)	خاکستر (%)	پروتئین (%)	لاکتوز (%)	چربی (%)	pH	اسیدیته (g/L)
مقدار	9±0/01	0/9±0/001	2/7±0/01	3/1±0/01	4/1±0/01	≈ 6/49	3/06±0/001

آنالیز شیمیایی شیر شتر در سه تکرار (n=3) و در سطح اطمینان 0/05 (P=0.05) انجام شد.

تهیه ماست

برای تهیه نمونه، ابتدا شیر شتر بر اساس بهینه درصد چربی تحقیقات لاجوردی و همکاران (1393)، در سطح چربی 1/9% آماده گردید. صمغ لوبیای خرنوب (LBG) و زانتان به نسبت 1:1 به عنوان عامل بافت دهنده در سه سطح 0/1، 0/2 و 0/3% به همراه درصدهای

1/5، 2 و 2/5% از β -گلوکان مطابق طرح آزمایش جدول 2 به شیر افزوده شد و توسط یکنواخت کننده اولتراتراکس (T25, IKA, Staufen, Germany) با سرعت 9000 دور در دقیقه به مدت 90 ثانیه همگن شدند. بر شیر شتر همگن شده با افزودنی های ذکر شده عمل پاستوریزاسیون به مدت 15 دقیقه و با دمای $75 \pm 1^\circ \text{C}$ انجام

پذیرفت و آغازگر تجاری حاوی ریزاندامگان پروبیوتیک و پس از خنک شدن شیر تا دمای $1 \pm 42^\circ\text{C}$ در سطح 0/5% طبق بهینه شرایط تحقیقات قبلی (لاجوردی و همکاران، 1393) افزوده شد و سپس به ظروف 50 میلی‌لیتری منتقل و گرمخانه‌گذاری شد. بعد از رسیدن نمونه‌ها به pH= 4/6 به یخچال در دمای $4 \pm 1^\circ\text{C}$ انتقال داده شدند. در روزهای اول، هفتم و چهاردهم آزمایشات لازم بر روی ماست‌های تولیدی انجام گرفت.

جدول 2- طرح آزمایش شیر شتر به همراه صمغ زانتان و صمغ لوبیای خرنوب

نمونه	صمغ زانتان (%)	صمغ لوبیای خرنوب (%)	β -گلوکان (%)	زمان (روز)
1	0/2	0/2	2/5	7
2	0/1	0/3	1/5	0
3	0/2	0/2	2	14
4	0/2	0/2	2	7
5	0/2	0/2	2	7
6	0/2	0/2	2	7
7	0/2	0/2	2	7
8	0/3	0/1	1/5	0
9	0/3	0/3	1/5	14
10	0/2	0/3	2	7
11	0/2	0/2	2	7
12	0/1	0/1	1/5	14
13	0/2	0/1	2	7
14	0/3	0/3	1/5	0
15	0/1	0/3	1/5	14
16	0/3	0/3	2/5	0
17	0/2	0/2	2	7
18	0/1	0/3	2/5	0
19	0/1	0/1	1/5	0
20	0/3	0/1	2/5	0
21	0/1	0/1	2/5	14
22	0/2	0/2	2	0
23	0/2	0/2	1/5	7
24	0/2	0/2	2	7
25	0/1	0/3	2/5	14
26	0/3	0/1	2/5	14
27	0/3	0/3	2/5	14
28	0/3	0/1	1/5	14
29	0/1	0/1	2/5	0
30	0/2	0/2	2	7
31	0/2	0/2	2	7

تعیین ظرفیت نگهداری آب¹

جهت بررسی ظرفیت نگهداری آب محصولات، 5 گرم از نمونه را در یک فالكون 15 میلی‌لیتری ریخته و سپس به مدت 30 دقیقه در دمای 10°C با سرعت 4500 دور در دقیقه توسط دستگاه (Mikro 220R, Hettich, Tuttlingen, Germany) سانتریفوژ شد. WHC از طریق رابطه 1 با دانستن مقدار فاز رویی جدا شده محاسبه گردید (Sahan et al. 2008).

$$WHC = \left(1 - \frac{W_f}{W_i}\right) \times 100 \quad (1)$$

که در رابطه 1 W_i ، وزن فاز رویی (g) و W_f ، وزن نمونه اولیه ماست (g) می‌باشد.

بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

برای یافتن میزان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات تولیدی 1 گرم از نمونه را با 9 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (محلول 0/9% (w/v) نمک (NaCl)) مخلوط و یکنواخت کرده، پس آن محلول‌ها را تا غلظت‌های 10^{-6} و 10^{-7} رقت‌سازی شد. جهت کشت 1 میلی‌لیتر از هر رقت را در 2 تکرار در پلیت حاوی محیط کشت MRS-Agar (Merck, Darmstadt, Germany) به همراه 0/15 درصد صفرای گاوی² (Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) منتقل نموده. نمونه‌های کاملاً مخلوط شده در محیط کشت، به مدت 72 ساعت در دمای ($37 \pm 1^\circ C$) گرمخانه‌گذاری شد. شمارش کلنی‌های رشد کرده در محیط کشت، تعداد باکتری‌های پروبیوتیک زنده مانده در نمونه را طی مدت زمان نگهداری مشخص می‌کند (لاجوردی و همکاران، 1393؛ فرجی و همکاران، 1391).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از روش سطح پاسخ (RSM) و جدول تجزیه واریانس ($\alpha < 0/05$) در سه تکرار، از طریق نرم‌افزار Design Expert 8 استفاده شد. طرح آماری آزمایش مطابق جدول 2 به صورت مربع مرکزی (CCD) در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

بررسی میزان ظرفیت نگهداری آب (WHC)

ظرفیت نگهداری آب ماست، در واقع توانایی بافت ماست جهت ممانعت از خروج آب از داخل محصول و مهاجرت به سطح آن می‌باشد. ساختار شبکه سه بعدی پروتئینی وظیفه اصلی نگهداری و به دام انداختن مولکول‌های آب در محصول را بر عهده دارد (Bahrami et al., 2013). مدل پیشنهاد شده معنی‌دار جهت بررسی میزان

ظرفیت نگهداری آب در محصول تولیدی، مدل درجه دوم می‌باشد. این مدل به دلیل داشتن ضریب تبیین بالا ($R^2 = 0/97$) و همچنین ضریب تبیین اصلاح شده بسیار مناسب ($R^2\text{-Adj} = 0/95$) مدل توجیه‌پذیری می‌باشد.

$$\begin{aligned} WHC (\%) = & +60.70 + (5.76 \times A) + (3.58 \times B) + (1.14 \times C) - \\ & (5.31 \times D) + (1.63 \times A \times B) - (1.76 \times A \times C) - (1.64 \times A \times D) + \\ & (0.48 \times B \times C) + (1.39 \times B \times D) + (0.77 \times C \times D) - (5.08 \times A^2) - \\ & (0.66 \times B^2) + (3.92 \times C^2) - (1.76 \times D^2) \end{aligned} \quad (2)$$

در این رابطه A، B، C و D به ترتیب بیانگر درصد صمغ زانتان، درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد پری‌بیوتیک (β -گلوکان) و مدت زمان نگهداری می‌باشد.

جدول 3- جدول ANOVA جهت بررسی تغییرات WHC

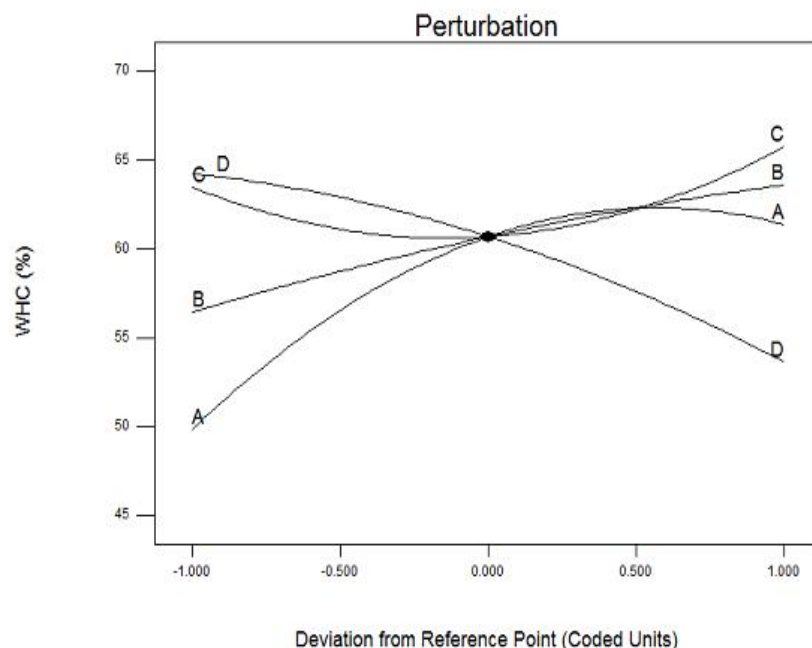
فاکتورها	ضریب	درجه آزادی	p-value
مدل	60/70	14	<0/0001*
A-صمغ زانتان	5/76	1	<0/0001*
B-صمغ لوبیای خرنوب	3/58	1	<0/0001*
C- پری بیوتیک	1/14	1	0/0066*
D-زمان	-5/31	1	<0/0001*
AB	1/63	1	0/0007*
AC	-1/76	1	0/0003*
AD	-1/64	1	0/0006*
BC	0/48	1	0/2333 ns
BD	1/39	1	0/0025*
CD	0/77	1	0/0660 ns
A ²	-5/08	1	<0/0001*
B ²	-0/66	1	0/5024 ns
C ²	-3/92	1	0/0009*
D ²	-1/76	1	0/0863 ns
عدم برازش	-	10	0/3362 ns
خطا	-	16	-

* معنی‌دار در سطح 0/05 و ns غیرمعنی‌دار

طبق جدول 3 تغییرات درصد صمغ زانتان، درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد β -گلوکان و گذشت زمان تاثیر معنی‌داری بر میزان WHC دارند. همانطور که در شکل 1 مشاهده می‌کنید با افزایش درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد صمغ زانتان و درصد β -گلوکان، میزان WHC افزایش معنی‌داری پیدا کرده است ولی گذشت زمان موجب کاهش WHC می‌گردد که مشابه نتایج (لاجوردی و همکاران، 1393؛ Sahan et al. 2008) می‌باشد.

1 Water Holding Capacity (WHC)

2 Bile-Bovin

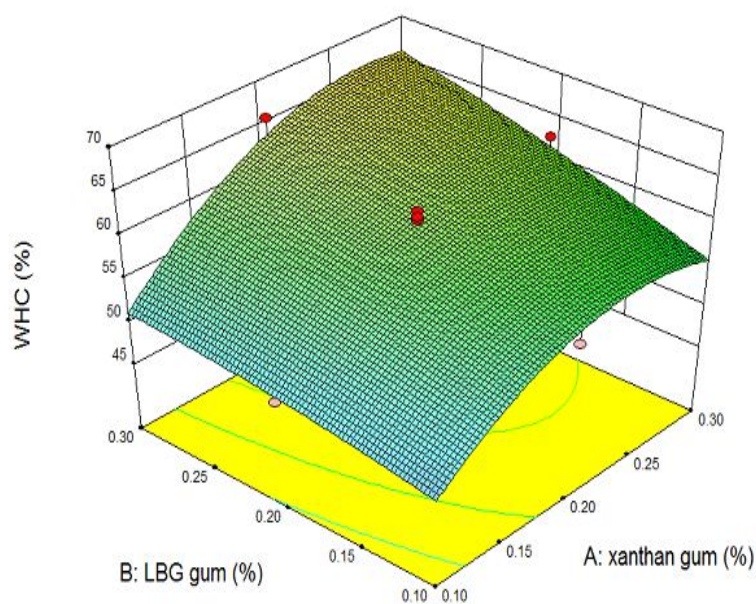


شکل 1- نوع و میزان تاثیر فاکتورهای مختلف بر تغییرات WHC ماست به‌دست آمده از شیر شتر. A, B, C و D به ترتیب بیانگر درصد صمغ زانتان، درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد پری بیوتیک (β -گلوکان) و مدت زمان نگهداری

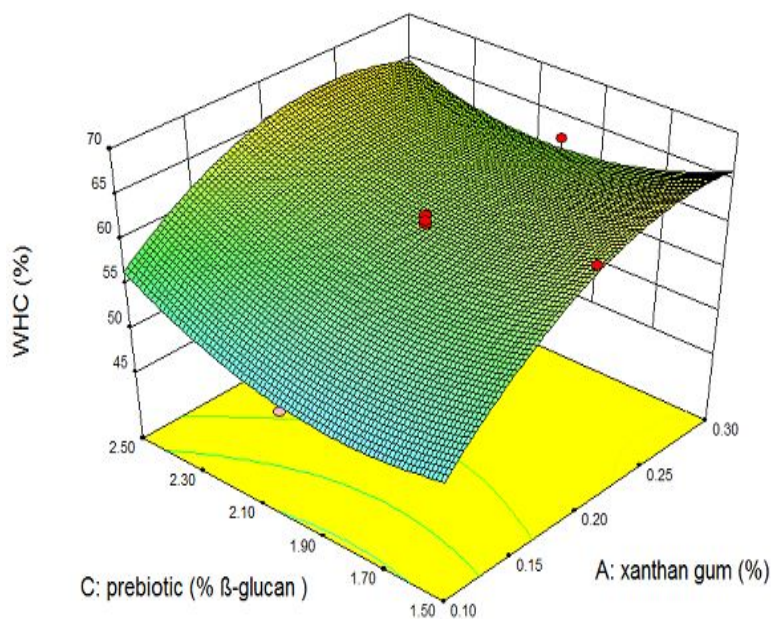
ممانعت به عمل آورده و ظرفیت نگهداری آب ماست تولیدی را افزایش می‌دهند (Lucey, 2002; Sanchez *et al.*, 2000). تحقیقات دیگر از جمله Purwandari و همکاران (2017)، Guzeli و همکاران (2005) و Robitaille و همکاران (2009) نیز به نتایج مشابه این تحقیق رسیدند و در یافتند وجود β -گلوکان و صمغ‌ها موجب افزایش قدرت بافت ماست جهت ممانعت از خروج آب می‌گردد و یا به عبارتی ظرفیت نگهداری آب در محصول افزایش پیدا می‌کند.

شکل 4 و 5 تاثیر معنی‌دار متقابل زمان با صمغ زانتان و صمغ لوبیای خرنوب را بر تغییرات WHC نشان می‌دهد. همانطور که در شکل‌های زیر مشاهده می‌شود بیشترین مقدار نگهداری آب در بافت نمونه، در بیشترین مقدار صمغ‌ها و اولین روزهای تولید محصول مشاهده می‌شود. به این دلیل که در روزهای اولیه تولید محصول (حدود 4 روز بعد از تولید) با افزایش مقدار صمغ به کار رفته در تولید ماست، WHC نسبت به اواخر دوره نگهداری افزایش بیشتری می‌یابد. دلیل این تغییرات را می‌توان به هیدراته شدن زیاد صمغ‌ها در طی نگهداری دانست که این امر موجب مستحکم‌تر شدن بافت می‌گردد و با گذشت زمان و سفت‌تر شدن بافت ماست آب محبوس شده، از شبکه ایجاد شده خارج می‌گردد و آب‌اندازی افزایش پیدا کرده و ظرفیت نگهداری آب محصول کاهش می‌یابد (Van-Vliet *et al.*, 1991).

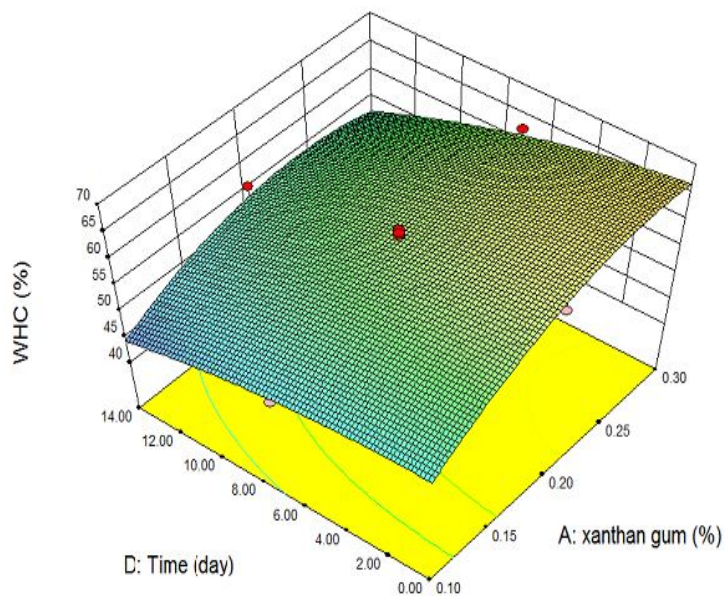
طبق شکل سه بعدی شماره 2 با افزایش درصد صمغ زانتان و درصد صمغ لوبیای خرنوب در محصول تولیدی، ظرفیت نگهداری آب در ماست افزایش پیدا کرده به‌طوری‌که بیشترین قابلیت نگهداری آب در محصولات با بیشترین درصد صمغ لوبیای خرنوب و صمغ زانتان مشاهده می‌شود. در واقع محصولاتی که با این شرایط تولید می‌شوند آب‌اندازی کمتری دارند. همچنین طبق شکل 3 با افزایش درصد صمغ زانتان و β -گلوکان ظرفیت نگهداری آب افزایش یافته است. این فاکتورها (صمغ لوبیای خرنوب و صمغ زانتان، صمغ زانتان و β -گلوکان) دو به دو دارای تاثیر هم‌افزایی بر هم هستند، به‌طوری‌که در این مطالعه، مشابه نتایج (Lucey, 2002; El-Sayed *et al.*, 2002)، بیشترین میزان ظرفیت نگهداری آب، در بالاترین درصد صمغ زانتان و صمغ LBG و همچنین در بالا ترین درصد صمغ زانتان و β -گلوکان مشاهده می‌شود (Kearney *et al.*, 2011) و این موضوع معنی‌دار بودن مدل درجه دوم جهت پیش‌بینی تغییرات WHC را توجیه می‌کند. تاثیرات رخ داده در محصول، به دلیل جذب و نگهداری آب در شبکه پروتئین- پلی‌ساکاریدی که تشکیل شده توسط این دو صمغ و β -گلوکان و با همکاری میسل‌های کازئین شیر شتر می‌باشد (Langendorff *et al.*, 1999; Langendorff *et al.*, 1998; Marozienne *et al.*, 2000; Syrbe *et al.*, 1997) که در نتیجه صمغ‌ها و شبکه ایجاد شده مولکول‌های آب را درون ساختار خود و شبکه ساخته شده به دام می‌اندازند و از خروج آب محصول



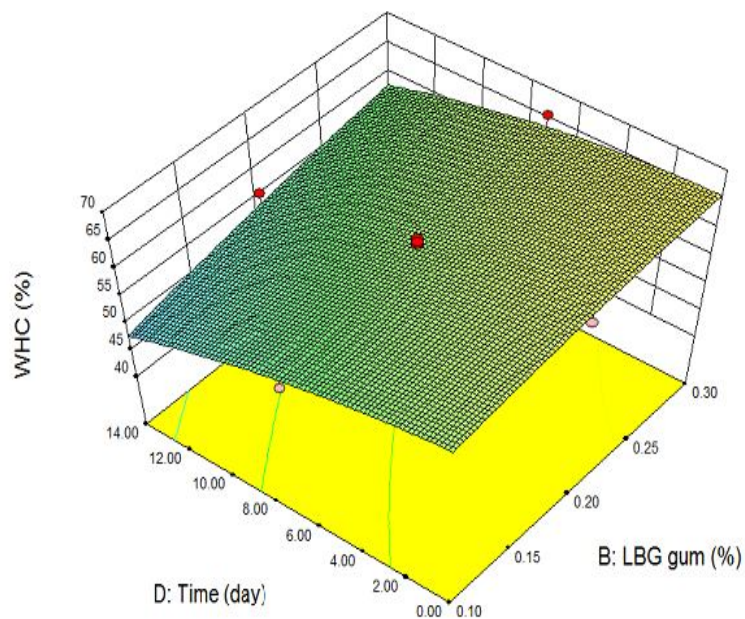
شکل 2- نمودار سه بعدی بررسی تغییرات WHC بر اثر تغییر درصد صمغ زانتان و درصد صمغ لوبیای خرنوب



شکل 3- نمودار سه بعدی بررسی تغییرات WHC بر اثر تغییر درصد صمغ زانتان و درصد β -گلوکان



شکل 4- نمودار سه‌بعدی بررسی تغییرات WHC بر اثر تغییر درصد صمغ زانتان و مدت زمان نگهداری



شکل 5- نمودار سه‌بعدی بررسی تغییرات WHC بر اثر تغییر درصد صمغ لوبیای خرنوب و مدت زمان نگهداری

بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

مدل پیشنهادی جهت تغییرات زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها، مدل درجه دوم با ضریب تبیین بالا ($R^2 = 0/98$) و ضریب تبیین اصلاح شده بسیار خوب ($R^2\text{-Adj} = 0/99$) می‌باشد.

$$+ (0.063 \times C \times D) - (1.31 \times A^2) - (3.31 \times B^2) - (0.81 \times C^2) - (3.31 \times D^2) \quad (3)$$

در این رابطه A، B، C و D به ترتیب بیانگر درصد صمغ زانتان، درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد پری‌بیوتیک (β -گلوکان) و مدت زمان نگهداری می‌باشد.

$$\text{Bac. count } (10^6 \text{ cfu/mL}) = +65.06 + (0.72 \times A) - (0.83 \times B) + (10.11 \times C) - (35.94 \times D) + (0.44 \times A \times B) + (0.81 \times A \times C) + (0.94 \times A \times D) - (0.44 \times B \times C) - (0.062 \times B \times D)$$

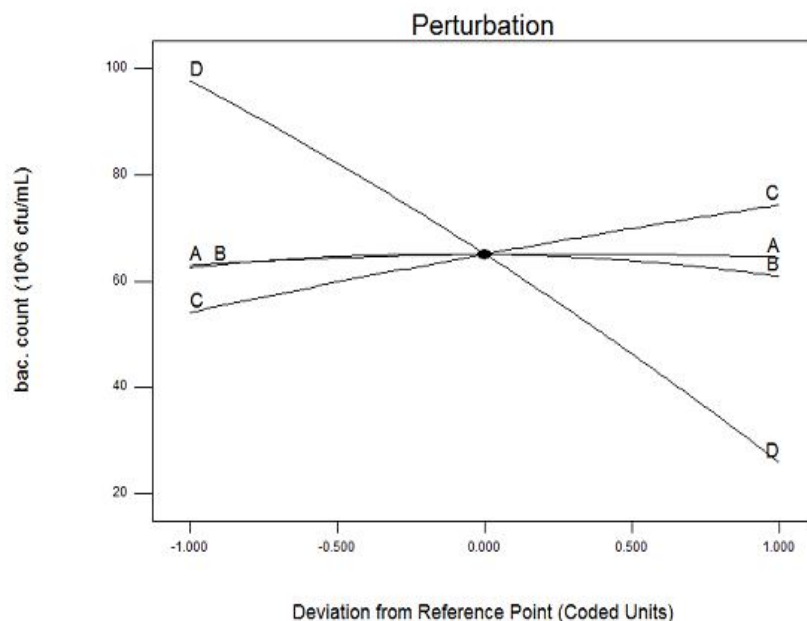
جدول 4- جدول ANOVA جهت بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

فاکتورها	ضریب	درجه آزادی	p-value
مدل	65/06	14	<0/0001 *
A- صمغ زانتان	0/72	1	0/0913 ns
B- صمغ لوبیای خرنوب	-0/83	1	0/0547 ns
C- پری‌بیوتیک	10/11	1	<0/0001 *
D- زمان	-35/94	1	<0/0001 *
AB	0/44	1	0/3201 ns
AC	0/81	1	0/0748 ns
AD	0/94	1	0/0429 *
BC	-0/44	1	0/3201 ns
BD	-0/062	1	0/8853 ns
CD	0/063	1	0/8853 ns
A ²	-1/31	1	0/2354 ns
B ²	-3/31	1	0/0066 *
C ²	-0/81	1	0/4579 ns
D ²	-3/31	1	0/0066 *
عدم برازش	-	10	0/4536 ns
خطا	-	16	-

* معنی‌دار در سطح 0/05 و ns غیرمعنی‌دار

شرایط محیطی مناسبی جهت رشد و فعالیت بیشتر و بهتر این ریزاندامگان فراهم شده و در محصول نهایی تعداد بیشتری از باکتری‌های پروبیوتیک مشاهده می‌شود (لاچوردی و همکاران، 1393). گذشت زمان تاثیر معکوسی بر زنده‌مانی باکتری‌ها دارد زیرا در طی مدت نگهداری مواد مورد نیاز جهت رشد و فعالیت باکتری‌ها در محیط کاهش یافته در نتیجه از میزان باکتری‌های زنده در ماست تولیدی کاسته می‌شود (لاچوردی و همکاران، 1393 و فرجی و همکاران، 1391) که بر اثر ایجاد این شرایط نامطلوب در ماست تولیدی، با گذشت زمان از تعداد باکتری‌های پروبیوتیکی که در محصول حضور دارند کاسته می‌شود.

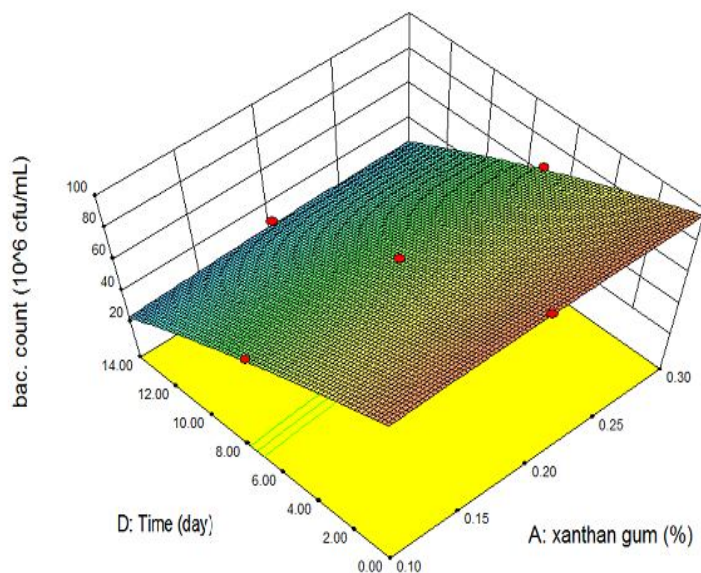
با توجه به جدول 4 و همچنین طبق شکل 6 تغییر در درصد صمغ زانتان و درصد صمغ لوبیای خرنوب اثر معنی‌داری بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک ندارند و عوامل مؤثر بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک میزان β -گلوکان و گذشت زمان می‌باشد. جهت پی بردن به نوع و میزان تاثیر فاکتورهای مختلف بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها می‌توان به شکل 6 مراجعه نمود. همانطور که مشاهده شد با افزایش میزان β -گلوکان به عنوان عامل پری‌بیوتیک زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک موجود در ماست افزایش پیدا کرد و این افزایش زنده‌مانی به دلیل افزایش غذای مورد نیاز باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد (Kearney et al., 2011). طبق نتایج ذکر شده،



شکل 6- نمودار نوع و میزان تاثیر فاکتورهای مختلف بر زندهمانی باکتری‌های پروبیوتیک ماست به‌دست آمده از شیر شتر. A، B، C و D به ترتیب بیانگر درصد صمغ زانتان، درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد پریبیوتیک (β -گلوکان) و مدت زمان نگهداری

روزهای اولیه نگهداری محصول می‌باشد (Norton *et al.*, 1990; Sanderson, 1990).

شکل 7 تاثیر متقابل دو فاکتور صمغ زانتان و زمان را بر زندهمانی پروبیوتیک‌ها نشان می‌دهد. همانطور که انتظار می‌رفت بهترین شرایط برای باکتری‌های پروبیوتیک درصد بالای صمغ زانتان در



شکل 7- نمودار سه‌بعدی بررسی زندهمانی باکتری‌های پروبیوتیک بر اثر تغییر درصد صمغ زانتان و مدت زمان نگهداری

با توجه به نتایج به دست آمده در می یابیم که وجود صمغ‌ها از جمله صمغ زانتان مشابه نتایج (El-Salam et al., 1996; Hematyar et al., 2012) هیچ‌گونه تأثیری سویی بر رشد و فعالیت باکتری‌های مفید ماست نداشته بلکه با گذشت زمان به علت ایجاد شرایط محیطی مطلوب، موجب رشد و فعالیت بهتر آنها می‌گردند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل شده از پژوهش فوق در می یابیم که β -گلوکان استخراجی از جو دوسر موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب در محصول می‌شود. β -گلوکان به دلیل خواص پری‌بیوتیکی خود، به عنوان غذای باکتری‌های پری‌بیوتیک عمل کرده و زنده‌مانی این میکروارگانیسم‌ها را در محصول افزایش می‌دهد. صمغ لوبیای خرنوب

و زانتان با میسل‌های کازینی شیر شتر شبکه مستحکمی تشکیل داده، که موجب به دام انداختن مولکول‌های آب می‌گردد. با حضور این دو صمغ در تولید ماست، این محصولات از ظرفیت نگهداری آب بالایی برخوردار می‌باشند. گذشت زمان نیز به عنوان یک عامل نامطلوب عمل کرده و با افزایش مدت نگهداری محصول، ظرفیت نگهداری آب و تعداد باکتری‌های پری‌بیوتیک زنده مانده در آنها کاسته می‌شود. شرایط بهینه برای تولید ماست سین‌بیوتیک از شیر شتر با 1/9% چربی و تلقیح 0/5% از باکتری‌های آغازگر پری‌بیوتیک به همراه افزودن بهینه میزان β -گلوکان (1/82%) و صمغ زانتان (0/3%) و صمغ لوبیای خرنوب (0/21%) شاهد حداکثر ظرفیت نگهداری آب (68/11%) و زنده‌مانی باکتری‌های پری‌بیوتیک ($9/2 \times 10^7$ cfu/mL) می‌باشد.

منابع

- فرجی، ن.، علیزاده خالد آبادی، م.، خسروشاهی اصل، ا. و فرجی، س.، 1391، بهینه سازی فرآیند تولید ماست پری‌بیوتیک کم‌چرب با استفاده از طرح مرکب (combined design)، نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران، 8 (2)، 136-121.
- لاجوردی، ژ.س.، یارمند، م.س.، امام جمعه، ز. و نیاسری نسلجی، ا.، 1393، امکان سنجی تولید ماست فراسودمند سین‌بیوتیک از شیر شتر با استفاده از β -گلوکان جودوسر، مجله مهندسی بیوسستم ایران، در دست چاپ.
- نیاسری نسلجی، ا.، عرب‌ها، ه.، اتک پور، اب.ب.، سلامی، م. و موسوی موحد، ع.ا.، 1390، نقش شیر شتر و ملکول‌های زیست فعال آن در درمان بیماری‌ها، مجله نشاعلم، 1، 24-20.
- Bahrami, M., Ahmadi, D., Alizadeh, M. & Hosseini, F. S., 2013, Physicochemical and Sensorial Properties of Probiotic Yogurt as Affected by Additions of Different Types of Hydrocolloid. *Korean Journal of Food Science*, 33(3), 363-368.
- Campolongo, R. M., Stefano, C., Alexa, A. L., Andrea, M. & Torreggiani, D., 2005, Structure-property relationships in osmo-air-dehydrated apricot cubes. *Food Research International*, 38 533-542
- Decourcellea, N., Lubbersa, S., Valletb, N., Rondeaub, P. & Guichard, E., 2004, Effect of thickeners and sweeteners on the release of blended aroma compounds in fat-free stirred yoghurt during shear conditions. *International Dairy Journal*, 14 783-789.
- El-Salam, A. M. H., El-Etriby, M. H. & Shahein, N. M., 1996, Influence of some stabilizer on some chemical and physical properties of yoghurt. *Egypt Journal of Dairy Science*, 24, 25.
- El-Sayed, E. M., El-Gawad, I. A. A., Murad, H. A. & Salah, S. H., 2002, Utilization of laboratory-produced xanthan gum in the manufacture of yogurt and soy yogurt. *European Food Research and Technology*, 215 298-304.
- Figuerola, E. R., Salgado-Cervantes, M. A., Rodriguez, G. C. & Garcia, H. S., 2002, Addition of hydrocolloids to improve the functionality of spray-dried yoghurt. *Milchwissenschaft*, 57(2) 87-89.
- Garcia-Ochoa, F., Santos, V. E., Casas, J. A. & Gomez, E., 2000, Xanthan gum: production, recovery, properties. *Biotechnology Advances*, 18, 549-579.
- Guzel-Seydim, Z. B., Sezgin, E. & Seydim, A. C., 2005, Influences of exopolysaccharide producing cultures on the quality of plain set type yogurt. *Food Control*, 16, 205-209.
- Hansen, P. M. T., 1993, Food hydrocolloids in the dairy industry. In K. Nishinari, & E. Doi (Eds.), *Food hydrocolloids: structures, properties and functions*. New York: Plenum Press, 211-224.
- Hematyar, N., Mohagheghi Samarin, A., Poor Azarang, H. & Elhamirad, A. H., 2012, Effect of gums on yogurt characteristics. *World Applied Sciences Journal*, 20(5), 661-665.
- Jasim, A. & Ramaswamy, H.S., 2004, Effect of high-hydrostatic pressure and concentration on rheological characteristics of xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 18, 367-373.
- Kearney, N., Stack, H. M., John, T., Tobin, J. T., Chaurin, V., Fenelon, M. A., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P. & Stanton, C., 2011, Lactobacillus Paracasei NFBC 338 producing recombinant beta-glucan positively influences the functional properties of yoghurt. *International Dairy Journal*, 21, 561-567.
- Langendorff, V., Cuvelier, G., Launay, B. & Parker, A., 1997, Gelation and flocculation of casein micelle/carrageenan mixtures. *Food Hydrocolloids*, 11(1), 35-40.

- Langendorff, V., Cuvelier, G., Launay, B., Michon, C., Parker, A. & De Kruif, C. G., 1999, Casein micelle/iota carrageenan interactions in milk: influence of temperature. *Food Hydrocolloids*, 13(3), 211–218.
- Lucey, J. A., 2002, Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of Dairy Science*, 85(2) 281–294.
- Marcotte, M., Taherian, A. R. & Ramaswamy, H. S., 2001, Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. *Food Research International*, 34, 695–703.
- Marozienne, A. & De Kruif, C. G., 2000, Interaction of pectin and casein micelles. *Food Hydrocolloids*, 14, 391–394.
- Moura, F. A., Pereira, J. M., Silva, D. O., Zavareze, E. R., Moreira, A. S., Helbig, E. & Dias, A. R. G., 2011, Effects of oxidative treatment on the physicochemical, rheological and functional properties of oat β -glucan. *Food Chemistry*, 128, 982–987.
- Nasirpour, A., 2013, Food Hydrocolloids (food formulation course and Phd course), 1-18.
- Norton, S. & Lacroix, C., 1990, Gellan gum gel as entrapment matrix for high temperature fermentation processes: a rheology *Biotechnology Technology*, 4, 351–356.
- Purwandari, U., Shah, N. P. & Vasiljevic, T., 2007, Effects of exopolysaccharide producing strains of *Streptococcus thermophiles* on technological and rheological properties of set-type yoghurt. *International Dairy Journal*, 17, 1344–1352.
- Ramirez-Figueroa, E., Salgado-Cervantes, M. A., Rodriguez, G. C., & Garcia, H. S., 2002, Addition of hydrocolloids to improve the functionality of spray-dried yoghurt. *Milchwissenschaft*, 57(2), 87–89.
- Robitaille, G., Tremblay, A., Moineau, S., St-Gelais, D., Vadeboncoeur, C. & Britten, M., 2009, Fat-free yogurt made using a galactose-positive exopolysaccharide producing recombinant strain of *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Dairy Science*, 92, 477–482.
- Sahan, N., Yasar, K. & Hayaloglu, A. A., 2008, Physical, chemical and flavour quality of non-fat yoghurt as affected by a β -glucan hydrocolloid composite during storage. *Food Hydrocolloid*, 22, 1291–1297.
- Sanchez, C., Zuniga-Lopez, R., Schmitt, C., Despond, S. & Hardy, J., 2000, Microstructure of acid induced skim milk (locust bean gum) xanthan gels. *International Dairy Journal*, 10, 199–212.
- Sanderson, G. R., 1990, Gellan gum. In: Harris, P. (Ed.) *Food Gels*. Elsevier, New York, 201–233.
- Syrbe, A., Bauer, W. J. & Klostermeyer, H., 1998, Polymer science concepts in dairy systems—an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International Dairy Journal*, 8(3), 179–193.
- Theuwissen, E. & Mensink, R. P., 2008, Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology & Behavior*, 94, 285–292.
- Urlacher, B. & Noble, O., 1997, Xanthan gums, Thickening and gelling agents for food London, UK: *Blackie Academic & Professional*, 284–312.
- Van-Vliet, T., Van Dijk, H. J. M., Zoon, P. & Walstra, P., 1991, Relation between syneresis and rheological properties of particle gels. *Colloid and Polymer Science*, 269(6), 620–627.

Synergistic effect of locust bean and xanthan gum on viability of probiotic bacteria and water holding capacity of synbiotic yogurt from camel milk

Zh. Sadat Ladjevardi¹, M. S. Yarmand², Z. Emam-Djome³, A. Niasari-Naslaji

Received: 2015.10.07

Accepted: 2017.01.09

Introduction: In recent decays, consumers have more information about foods. Vegetables, crops and other natural food with high nutritional value replace hazardous substances. In this study, the effects of locust bean gum and xanthan gum with β -glucan were investigated in camel synbiotic yogurt functional. Locust bean gum (LBG) has about 88% of galactose and mannose, 4% other polysaccharides, 6% protein, 1% cellulose and 1% the ashes (Nasirpour, 2013; Hansen, 1993).

Xanthan gum is an extracellular polysaccharide produced by *Compestris Xanthomonas* in aerobic fermentation process. Xanthan reactions synergies with guar and LBG, so the low concentrations in the presence of LBG viscosity increase (Ramirez-Figueroa et al., 2002).

In this study, the oats β -glucan inoculated with probiotic bacteria to camel milk for production of functional synbiotic yogurt was employed. The camel milk has high nutritional value such as insulin-like substance, less lactose, immuno-globulins and lactoferrin, antioxidants and antimicrobial agents and other nutrients (ladjevardi et al., 2015; Niasari Naslaji et al., 2011). Synbiotic dairy product made from combinations of probiotic bacteria with prebiotics agent (β -glucan). About 10^8 - 10^7 cfu/mL of live bacteria should be in the final products (Faraj et al., 2012). β -glucan is an indigestible carbohydrate complicated (Theuwissen & Mensink, 2008) with very high nutritional properties, including improved intestinal activity (fibers), lowering uric acid blood, stimulating the immune system (Xue et al., 2013; Chao et al., 2013).

Materials and Methods: At first, camel milk (from Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran) was standardized by centrifugation (Universal 320, Hettich, Tuttlingen, Germany) to 1.9% fat content. Then xanthan gum and locust bean gum (1:1) were added in three level 0.1, 0.2 and 0.3%. β -glucan (extracted from oats as described by Moura et al. (2011)) in 1.5, 2 and 2.5% levels was added to milk. Camel milk was homogenized with ultra-turrax blender (T25, IKA, Staufen, Germany) in speed 9000 r.p.m. Then, the milk sample was pasteurized for 15 min at 75 ± 1 °C. Samples were prepared by adding yogurt starter culture (1.5%) containing probiotic microorganisms (ABY1, Cristian Hansen, Hørsholm, Denmark) at 42 °C. The mixtures were redistributed into 50 mL sterile plastic cups, incubated at 42 °C until their pH decreased to 4.6, they cooled and stored at 4 ± 1 °C (Mazloomi et al. 2011).

Determination of water-holding Capacity (WHC)

5 g of yogurt was centrifuged (Mikro 220R, Hettich, Tuttlingen, Germany) at 4500 r.p.m. for 30 min at 10°C. After centrifugation, the supernatant was removed and the pellet was collected and weighed.

Microbial Analyses

1 g of yogurt with 9 mL of normal saline (a solution of 0.9 % (w/v) NaCl (Merck, Darmstadt, Germany)) was mixed and diluted to a concentration of 10^6 and 10^7 , and then 1 mL of each dilution was repeated in 2 plate containing the MRS-Agar (Merck, Darmstadt, Germany) with 0.15% Bovin-Bile (Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA). Bacteria were counted by the pour plate technique. The plates in duplicates were incubated anaerobically at 37 °C for 72 h, after this period, colonies were counted (Mishra and Mishra 2012).

Statistical Analysis

The response surface methodology (RSM) and ANOVA ($p < 0.05$) were used for data analysis using Design Expert 8 (Version 8.0.7.1, Minneapolis, MN, U.S.A) software. The experiment was designed according to central composite design (CCD). All experiments and measurements were conducted in triplicate, mean value $\pm$ sd are reported.

1, 2 and 3. MSc Student, Assistant professor and Professor, Department of Food Science & Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Iran

4. Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

(* - Corresponding Author Email: emamj@ut.ac.ir)

Result and discussion

Water-Holding Capacity (WHC)

Changes of xanthan gum, LBG, β -glucan and time storage have a significant effect on the WHC. Increasing the percentage of LBG, xanthan gum and the percentage of β -glucan significantly increased the WHC. Time storage reduced the WHC similar results of Ladjevardi et al. (2015) and Sahan et al. (2008).

According ANOVA table, the products had maximum water holding capacity at the highest percentage of LBG and xanthan gum. The percentage of xanthan gum and β -glucan increased water holding capacity. These factors (LBG and xanthan gum, xanthan gum and β -glucan) have a synergistic effect on each other mutually.

Xanthan gum and LBG showed interaction effect with time storage on changes in WHC including maximum water retention in the sample tissue, the high percentage of gums and the early days of production.

Viability of probiotic bacteria

Viability of probiotic bacteria significantly increased when used from high percentage of β -glucan (as a prebiotic agent) in synbiotic yogurt. This change was related to increasing food for probiotic bacteria (Kearney et al., 2011). According to the results mentioned a good environment for the growth and activity of the microorganisms (ladjevardi et al., 2015). The unfavorable conditions in production of synbiotic yogurt, was time duration. During storage, the number of probiotic bacteria that are present in the product is reduced Xanthan gum and LBG have no significant effect on viability of probiotic bacteria

Xanthan gum and time storage have interaction effect on the viability of probiotics bacteria. As expected, the best conditions for probiotic bacteria to maintain a high percentage of xanthan gum was at the early days of the sample production ((Norton and Lacroix, 1990; Sanderson, 1990).

According to the results, it was found that gums such as xanthan gum and LBG showed similar results to those of El-Salamt et al. (1996) and Hematyar et al. (2012) and had adverse influence on the growth and activity of beneficial bacteria.

Keywords: xanthan gum, locust bean gum, β -glucan, yogurt, camel milk



کوتاه پژوهشی

پیش بینی برخی ویژگی های کیفی میوه انبه رقم کلک سرخ با استفاده از پردازش تصاویر رنگی و شبکه های عصبی مصنوعی

امید دوستی ایرانی¹ - عباس روحانی¹ - محمود رضا گلزاریان^{1*} - منصوره شمیلی² - پیمان آذرکیش³

تاریخ دریافت: 1397/09/26

تاریخ پذیرش: 1398/04/01

چکیده

درجه بندی میوه از نظر ویژگی های کیفی از جمله سفتی، مواد جامد محلول و اسیدیته، به صورت غیرمخرب در امر بازاریابی تأثیر به سزایی دارد. در این پژوهش با استفاده از ترکیب تکنیک های پردازش تصویر و هوش مصنوعی، پیش بینی ویژگی های کیفی انبه رقم کلک سرخ مورد بررسی قرار گرفته است. نمونه های مورد بررسی در دو تیمار دمایی 5، 15 و تیمار شاهد (24 درجه سانتی گراد) به مدت 48 ساعت قرار گرفتند. پس از آن به مدت 14 روز به صورت یک روز در میان تصویربرداری از نمونه ها انجام و ویژگی های رنگی از نواحی مورد نظر در محیط رنگی L^*a^*b استخراج شدند. پس از هر مرحله تصویربرداری میزان اسیدیته، قند و سفتی بافت اندازه گیری شد. به منظور بررسی ارتباط بین خصوصیات فیزیوشیمیایی و مشخصه های تصویری بین نمونه ها، شبکه عصبی چندلایه پرسپترون ایجاد و آموزش داده شد. از این شبکه تربیت شده به منظور پیش بینی ویژگی های فیزیکی از روی مشخصه های رنگی استفاده شد. متغیرهای ورودی به شبکه شامل تیمار دمایی در سه سطح (شاهد، 15 و 5 درجه سانتی گراد)، کانال های رنگی (L, a, b) و میزان انحراف معیار کانال های رنگی (stdL, stda, stdb) است. متغیرهای خروجی نیز شامل قند، اسیدیته و سفتی بافت است. نتایج حاصل از پیش بینی مدل شبکه عصبی نشان داد که دقت مدل در مرحله آزمون برای پیش بینی فاکتورهای اسیدیته، قند و سفتی بافت به ترتیب برابر با 88، 85، 45 درصد است؛ بنابراین هرچند دقت مدل شبکه عصبی برای پیش بینی اسیدیته از روی فاکتورهای رنگی نمونه های انبه پایین بود، اما شبکه عصبی مبتنی بر ماشین بینایی قادر به پیش بینی فاکتورهای سفتی و قند با دقت بالا است.

واژه های کلیدی: انبه، ماشین بینایی، شبکه عصبی، ویژگی های کیفی.

مقدمه

چرخه مصرف را داشته باشد و نیز اثر زیانبار روش های فتوفیزیکی، گرمایی، شیمیایی، مکانیکی و فتوشیمیایی را نداشته باشند (نیکبخت و همکاران، 1389). روش های پرشماری برای ارزیابی کیفی محصولات کشاورزی به صورت غیرمخرب ابداع شده اند که تنها برخی از آنها توانسته اند شرایط مطلوب را برآورده کرده و از لحاظ فنی و صنعتی قابلیت توجیه داشته باشند. روش های چشمی (اپتیکی)، امواج الکترومغناطیسی و صوتی در توسعه آزمون های غیرمخرب نقش اساسی داشته اند، اما در عین حال این روش ها می توانند ویژگی های محدودی را در محصولات باغبانی به ویژه در میوه ها بررسی کنند؛ بنابراین لازم است شرایط حاکم بر این روش ها به دقت بررسی و در گزارش یا ثبت نتایج آزمایش لحاظ شوند (خدابخشیان کارگر و همکاران، 1394). در میان روش های نام برده، استفاده از روش پردازش تصویر در حال گسترش بوده و ارزش قابل توجهی برای صنعت غذا دارد (میرحسینی و همکاران، 1397). ماشین بینایی که مبتنی بر پردازش تصویر است شاخه ای از هوش مصنوعی است، که در آن بینایی انسان شبیه سازی می شود. از این سامانه ها می توان

اخیرا تقاضای مصرف کنندگان برای میوه و سبزی ها با کیفیت بالا در حال افزایش است. با توجه به این موضوع، افزایش دقت و قابلیت اعتماد در بخش عملیات پس از برداشت از جمله ارزیابی کیفی باید برای همه میوه ها انجام شود. بدیهی است که این امر باید به صورت سریع و غیرمخرب صورت گیرد (خدابخشیان کارگر، 1394). آزمایش های غیرمخرب به روش هایی گفته می شود که در آنها محصول مورد نظر هیچ گونه آسیبی ندیده، قابلیت برگشت دوباره به

1- گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

2- گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرمزگان

3- گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(*) - نویسنده مسئول: (Email: m.golzarian@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/food.v16i2.77537

برای کنترل کیفیت، جداسازی و درجه‌بندی محصولات کشاورزی استفاده کرد (پوردربانی و همکاران، 1388). مبحث کنترل کیفیت میوه به دلیل اینکه بسیاری از خواص فیزیکی و مکانیکی میوه باید مورد بررسی قرار گیرد بسیار پیچیده است (Nordey et al., 2014). صفات کیفی میوه بستگی به غلظت متابولیت‌های اولیه از جمله قند، اسیدهای آلی و آمینواسیدها و همچنین متابولیت‌های ثانویه از جمله رنگدانه‌ها، ویتامین‌ها و عطر دارد (Genard et al., 2008; Lechaudel et al., 2007). بسیاری از میوه‌ها در طی رسیدن پس از برداشت، تحت تغییرات شدید رنگ قرار می‌گیرند از جمله این میوه‌ها می‌توان به انبه، موز و سیب اشاره نمود. در میوه انبه رنگ گوشت جزء مهمی از کیفیت میوه است و نقش مهمی در بازارپسندی و رضایت مشتری دارد (Medlicott et al., 1986). انبه (*Mangifera indica* L.) یکی از میوه‌های گرمسیری است که از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است. با توجه به ماهیت فرازگرای میوه انبه، در مناطق تولید تجاری، میوه‌ها در مرحله سبز رسیده و یا در مرحله ابتدایی تغییر رنگ از سبز به سایر رنگ‌ها (بسته به رقم) برداشت می‌شوند. در صورت کاربرد تیمارهای مناسب پس از برداشت، کیفیت میوه حداقل 2 تا 4 هفته حفظ خواهد شد (آذرکیش و شمیلی، 1394). بعضی از پارامترهای رسیدگی میوه انبه عبارت‌اند از درصد مواد جامد محلول، اسیدیته، کربوهیدرات‌ها، وزن مخصوص و ترکیبات فنلی (محمدپور و سماوی، 1393). درصد بالای مواد جامد محلول در تعیین کیفیت میوه برای مصرف تازه‌خوری و یا تهیه محصولات فرآوری شده از میوه انبه اهمیت دارد و یکی از شاخص‌های مهم در تعیین بلوغ میوه انبه است (عباسی و همکاران، 1391). سفتی بافت میوه انبه (در زمان شروع آزمایش 11، 10 و 8/2 کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) با افزایش مدت نگهداری (تا روز پانزدهم به 3/4، 3 و 2/5 کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) به تدریج کاهش می‌یابد (کلانتری و همکاران، 1392). هرچه از مدت زمان نگهداری میوه انبه بگذرد در نتیجه باعث افزایش سرعت تنفس و تسریع سنتز آنزیم‌های تخریب کننده دیواره سلول مانند پلی‌گالاکتوروناز شده و در نهایت منجر به نرم شدن میوه انبه می‌گردد (Jacobi et al., 2001). محققین دریافتند که میزان مواد جامد محلول میوه انبه سبز رسیده رقم داشه هاری¹ از زمان شروع آزمایش تا روز ششم نگهداری در دمای اتاق از 10 به 16 درصد افزایش یافت و سپس تا روز پانزدهم به تدریج کاهش یافت (Rathore et al., 2007). این درحالی است که مواد جامد محلول در برخی ارقام انبه در هند بین 8-12 درصد گزارش شده است (More et al., 2004). pH میوه با گذشت زمان نگهداری تا حدودی افزایش می‌یابد که می‌تواند بیانگر مصرف اسیدهای آلی در طول زمان باشد (کلانتری و همکاران، 1392). ارزیابی بصری بسیار

خسته‌کننده و زمان‌بر است. ابزاری که اندازه‌گیری مناسبی از رنگ سطح میوه ارائه می‌کند، مقایسه مناسبی از کیفیت میوه را در طول مکان، زمان و فصل تولید آن را فراهم می‌آورند. در پژوهشی، برای اندازه‌گیری تغییرات رنگ استفاده از کرومومتر Minolta یا رنگ‌سنج² Hunter Lab پیشنهاد شده است (Le'on et al., 2006). روش دیگری جهت دریافت اطلاعات رنگ، استفاده از سیستم بینایی کامپیوتر (CVS³) می‌باشد. CVS شامل روشنایی استاندارد، یک دوربین برای تهیه تصویر و نرم‌افزاری جهت پردازش تصویر است (Pedreschi et al., 2006). دوستی‌ایرانی و همکاران (1394) بررسی تغییرات رنگ و دمای بافت لیپده و سالم سیب رقم گلدن دلشیز با استفاده از پردازش تصاویر مرئی و گرمایی را مورد ارزیابی قرار داده‌اند. همچنین در پژوهشی دیگر تخمین عمق لهیدگی با استفاده از پردازش تصاویر گرمایی و مدل رگرسیون مورد بررسی قرار گرفته است (دوستی‌ایرانی و همکاران، 2016). گلزاریان و همکاران (1395) تشخیص آسیب‌های مکانیکی میوه انبه را با استخراج ویژگی‌های رنگی در دو مدل رنگی RGB و $L^*a^*b^*$ مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش درصد مساحت استخراج شده از هر نمونه معیاری برای درجه‌بندی میوه انبه مورد استفاده قرار گرفت. با استفاده از روش خوشه‌بندی k میانگین و مقایسه میانگین خوشه‌ها با استاندارد آمریکایی (USDA, 2006)، درجه‌بندی با قدرت تفکیک بالا حاصل شد. در بررسی سلمانی‌زاده و همکاران (1392) به بررسی امکان‌سنجی استفاده از جذب اشعه ایکس به‌عنوان یک روش غیرمخرب برای تعیین برخی از شاخص‌های کیفی میوه انار پرداخته شده است. با توجه به تحقیقات انجام شده این طور نتیجه می‌شود که کیفیت میوه تشکیل شده از ویژگی‌هایی چون بافت، میزان قند، اسیدیته، عطر، عمر مفید میوه که از جمله ویژگی‌های مهم و ذاتی میوه می‌باشند. علاوه بر این موارد ممکن است فاکتورهای ارزیابی کیفیت ظاهری میوه در ارتباط با ویژگی‌های کیفی داخلی میوه باشند و از جمله مهمترین آن‌ها می‌توان به رنگ و ابعاد میوه اشاره نمود. در این پژوهش فرض می‌شود که بین رنگ میوه انبه و ویژگی‌های کیفی داخلی شامل قند، سفتی و اسیدیته ارتباطی وجود دارد. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی وجود یا عدم وجود ارتباط بین ویژگی‌های استخراج شده از رنگ میوه (فاکتورهای رنگی RGB و $L^*a^*b^*$) انبه رقم کلک سرخ با ویژگی‌های کیفی محصول (قند، سفتی و اسیدیته) است. بررسی این ارتباط و قابلیت پیش‌بینی فاکتورهای کیفی محصول با استفاده از شبکه عصبی چندلایه پرسپترون است.

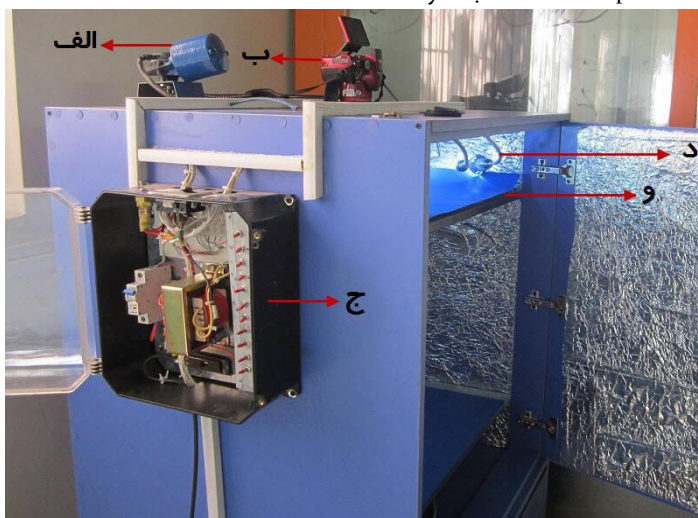
مواد و روش‌ها

نمونه‌های مورد آزمایش انبه رقم کلک سرخ از باغات میناب واقع در استان هرمزگان تهیه و به آزمایشگاه پردازش تصویر (دمای 24 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 22%) منتقل شدند. نمونه‌ها در 3 تیمار دمایی 5، 15 و تیمار شاهد (24 درجه سانتی‌گراد) به مدت 48 ساعت قرار گرفتند. سپس همه نمونه‌ها در دمای محیط قرار گرفته و پس از آن به مدت 14 روز به صورت یک روز در میان تصویربرداری از نمونه‌ها انجام و پس از هر مرحله تصویربرداری آزمون‌های ارزیابی کیفی به صورت مخرب انجام شد. در این ارزیابی میزان قند، سفتی و اسیدیته میوه مورد ارزیابی قرار گرفته است.

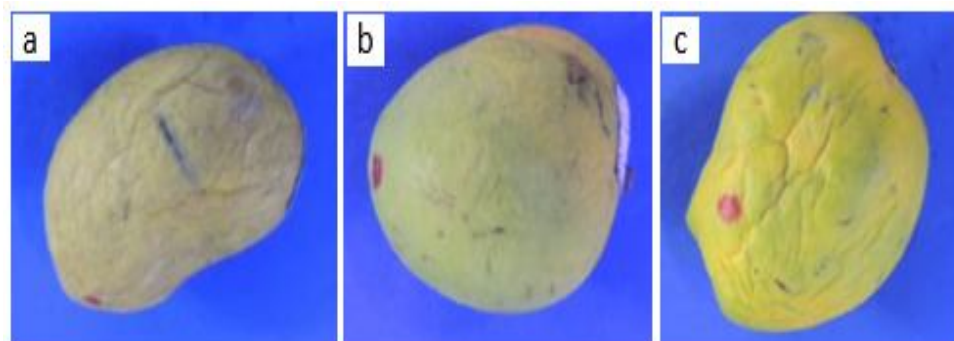
تصویربرداری

جهت تصویربرداری از اتاقک تصویربرداری شکل 1 استفاده شد (گلزاریان و همکاران، 1392). تصاویر در طیف مرئی توسط یک دوربین Nikon Coolpix P510 Nikon Inc, Japan با قدرت

تفکیک 16/1 مگاپیکسل تهیه شد. به منظور قرارگیری کامل نمونه‌ها در حوزه دید دوربین، با توجه به فاصله کانونی لنز در دوربین فاصله بین دوربین و نمونه‌ها 20 سانتی‌متر در نظر گرفته شد. تصویربرداری به نحوی است که نمونه‌ها در زیر دوربین قرار گرفته و از یک نمای مشخص شده از نمونه تصویر گرفته می‌شود. نورپردازی مناسب به هنگام تصویربرداری سبب سهولت در آنالیز تصاویر می‌گردد. همان‌طور که در شکل 1 مشاهده می‌شود نورپردازی به نحوی است که از تشکیل سایه و نقاط متمرکز نوری در تصویر جلوگیری شود. همچنین از یک پس‌زمینه به رنگ آبی برای تصویربرداری استفاده شد. در شکل 2 سه تصویر از نمونه‌های مورد آزمایش در دمای 5 درجه سانتی‌گراد، 15 درجه سانتی‌گراد و دمای اتاق (تیمار شاهد) در مرحله آخر نگهداری میوه‌ها نمایش داده شده است. در شکل 2 تیمار 5 درجه سانتی‌گراد با حرف (a)، تیمار 15 درجه سانتی‌گراد با حرف (b) و تیمار شاهد با حرف (c) نمایش داده شده است.



شکل 1- اتاقک عکس‌برداری. الف) موتور، جهت تغییر ارتفاع صفحه‌ی پس‌زمینه. ب) دوربین که بر روی پایه‌ی اتاقک نصب شده است. ج) تابلوی کنترل روشنایی و لامپ‌های LED و راه‌اندازی موتور بالا برنده. د) لامپ LED به همراه پایه؛ و) صفحه پس‌زمینه



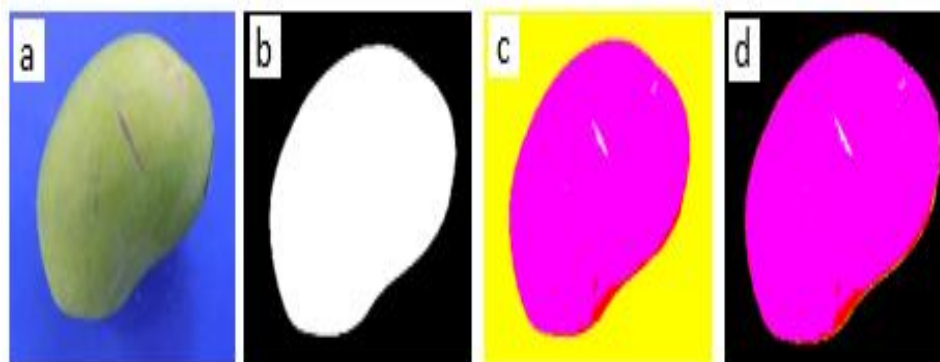
شکل 2- تصویربرداری انجام شده از نمونه‌ها در سه تیمار، به ترتیب از چپ به راست، 5، 15 درجه سانتی‌گراد و تیمار شاهد

قرار گرفتند. همان‌طور که در شکل 3 مشاهده می‌شود به‌منظور نمونه‌برداری از میوه انبه پس از فراخوانی تصاویر در نرم‌افزار، ویژگی‌های رنگی از نواحی مورد نظر در محیط رنگی L^*a^*b استخراج شدند. در شکل سه از چپ به راست، تصویر a نشان دهنده تصویر RGB اولیه، تصویر b، نشان‌دهنده تصویر باینری، تصویر c تصویر تبدیل شده از محیط RGB به محیط L^*a^*b ، تصویر d نشان‌دهنده تصویر L^*a^*b است که در آن پس زمینه به‌واسطه ضرب تصویر c در تصویر b حاصل شده است. به‌منظور باینری کردن تصویر اولیه از حد آستانه به‌دست آمده از تفاضل دو کانال آبی و قرمز (b-r) استفاده شده است (گلزاریان و همکاران، 1395) در شکل 4 این حد آستانه نمایش داده شده است. در الگوریتم پردازش تصویر مطابق با شکل 4، مقدار حد آستانه در ویژگی b-r برابر با 0/3 در نظر گرفته شده است.

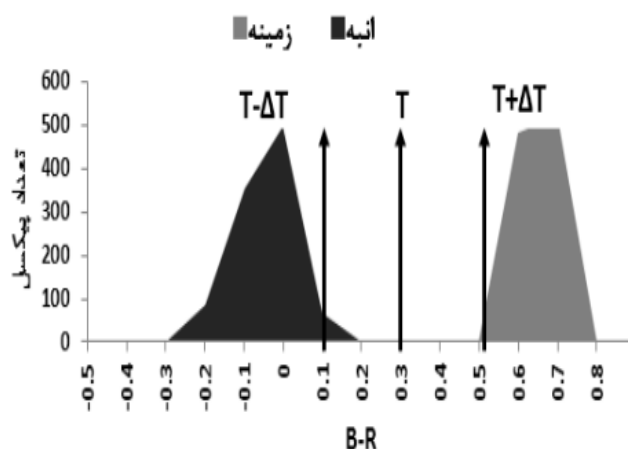
اندازه‌گیری ویژگی‌های کیفی شامل قند، سفتی و اسیدیته
برای اندازه‌گیری قند میوه از دستگاه رفاکتومتر استفاده شد (Arzani and Koushesh, 2005). به‌منظور اندازه‌گیری سفتی بافت میوه از دستگاه سفتی‌سنج (OSK-10576) با پروب استوانه‌ای به قطر 8 میلی‌متر استفاده شد. میزان فشار دستگاه بر حسب کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع محاسبه شد (Hertog et al. 2004). برای اندازه‌گیری pH از دستگاه pHسنج (Metrohm، 744، سوئیس) استفاده شد؛ که نتایج به‌صورت درصد اسید مالیک بیان گردید (Roussos et al. 2011). برای انجام این سه آزمایش نمونه‌ها تخریب و از چرخه آزمایش خارج می‌شدند.

ویژگی‌های رنگی

پس از تصویربرداری از نمونه‌ها تصاویر موردنظر در نرم‌افزار Matlab نسخه R2011a (Mathworks Inc, US) مورد پردازش



شکل 3- مراحل استخراج ویژگی‌های رنگی در محیط L^*a^*b : (a) تصویر اصلی، (b) تصویر باینری تصویر اصلی، (c) تصویر تبدیل یافته در محیط L^*a^*b ، (d) حذف پس‌زمینه در تصویر c.



شکل 4- هیستوگرام تعیین حد آستانه مناسب به‌منظور جداسازی انبه از پس‌زمینه.

$$x_n = \frac{x - x_{min}}{x_{max} - x_{min}} \times (r_{max} - r_{min}) + r_{min} \quad (4)$$

در رابطه فوق x داده خام اولیه، x_n داده نرمالیزه شده، r_{max} و r_{min} به ترتیب مقادیر بیشینه و کمینه داده‌های اولیه و r_{max} و r_{min} به ترتیب حد بالی و پایینی دامنه تغییرات داده‌های تبدیل شده است. 80 درصد از داده‌ها به عنوان داده‌های آموزش، 10 درصد از داده‌های برای فاز اعتبارسنجی مدل و 10 درصد باقی مانده در فاز آزمون مورد استفاده قرار گرفته اند.

نتایج و بحث

در شکل 5 نمودار عملکرد شبکه عصبی برای سه حالت آموزش، اعتبار و تست برای هر سه حالت اسیدیت، سفتی و قند نمایش داده شده است. این نمودار که شامل سه نمودار به رنگ آبی، سبز و قرمز است به ترتیب برای داده‌های آموزش، اعتبارسنجی و آزمون است. محور افقی نشان‌دهنده تعداد تکرار آموزش شبکه است که در آن تکرار شبکه آموزش دیده است. نمودارهای عملکردی از یک نقطه با خطای مشخص شروع می‌شوند و با تکرار آموزش شبکه مقدار خطا کاهش یافته و پس از نقطه همگرایی ثابت می‌شود. همانطور که مشاهده می‌شود برای فاکتور اسیدیت، سفتی و قند تعداد تکرار شبکه به ترتیب برابر با (5)، با عملکرد 0/012904، (8)، با عملکرد 0/017368 و (7)، با عملکرد 0/0079601 به دست آمده است. این نقطه بهینه با دو خط چین و دایره سبز رنگ نمایش داده شده است. بعد از این مرحله خطای مراحل آموزش، اعتبارسنجی و آزمون، مقدار ثابتی به خود گرفته‌اند. محور عمودی نیز میانگین مربعات خطا را در نقطه‌ای که شبکه همگرا شده است، نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود برای پیش‌بینی اسیدیت میوه انبه با استفاده از ویژگی‌های رنگی میانگین مربعات خطا نسبت به دو فاکتور سفتی و قند بیشتر است.

در شکل 6 هیستوگرام خطا مربوط به سه مدل شبکه عصبی نمایش داده شده است. در این نمودار محور افقی مقدار خطا یا اختلاف خروجی و خروجی مطلوب است. در واقع پس از آموزش شبکه بیشترین و کمترین خطا محاسبه شده و تعداد نمونه‌هایی که دارای خطایی در هر محدوده هستند؛ مشخص می‌شوند. خط نارنجی نشان‌دهنده خطای صفر است که هرچه تعداد نمونه‌ها در محدوده نزدیک‌تر به این خط قرار بگیرند و از توزیع نرمال‌تری برخوردار باشد، نشان‌دهنده این است که شبکه عصبی از مدل رگرسیونی بهتری برخوردار است. حروف a، b و c به ترتیب مربوط به پیش‌بینی اسیدیت، سفتی و قند است و همانطور که مشاهده می‌شود وضعیت شبکه در دو حالت پیش‌بینی سفتی و قند انبه بهتر از حالت پیش‌بینی اسیدیت است.

تبدیل مدل رنگی RGB به L^*a^*b

در این تحقیق از دو محیط رنگی RGB (مدل رنگ پایه) و L^*a^*b استفاده شد. بر اساس مدل رنگی RGB هر رنگ از ترکیب مقادیری از سه رنگ اصلی قرمز، سبز و آبی تشکیل شده است. برای تبدیل این مدل به مدل رنگی L^*a^*b یکی از روش‌ها تبدیل مستقیم مقادیر RGB به L^*a^*b می‌باشد (León et al. 2006). در این روش، ابتدا فضای رنگی RGB به فضای رنگی پایه XYZ تبدیل و با استفاده از رابطه 1 مقدار L^* که بیانگر میزان درخشندگی در تصویر می‌باشد به دست می‌آید. در رابطه 2 مقدار a^* قابل محاسبه می‌باشد که این مقدار بیانگر میزان تغییر رنگ از سبز به قرمز و در رابطه 3 مقدار b به دست می‌آید که بیانگر میزان رنگ از آبی به زرد است.

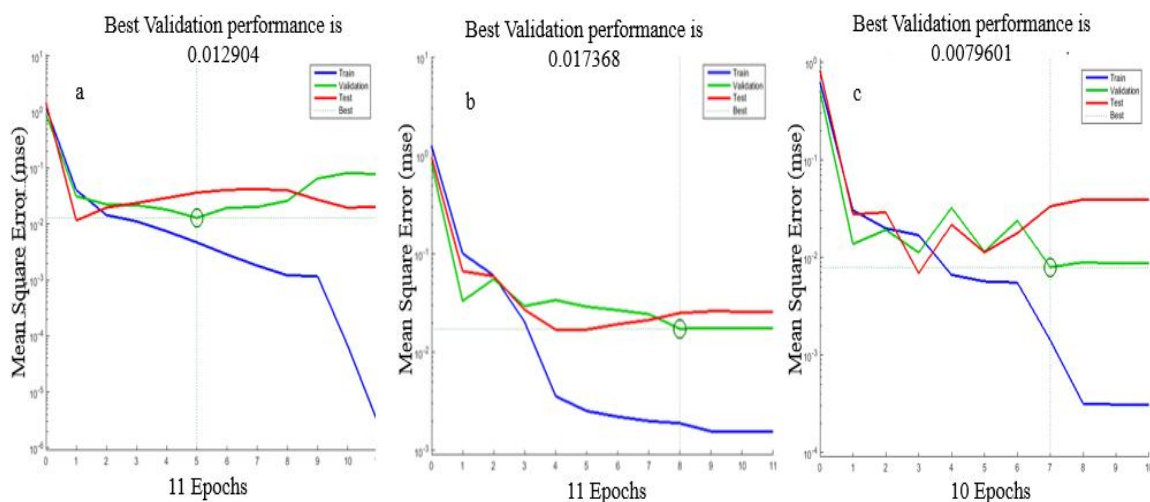
$$\bar{L}^* = \begin{cases} 116 \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} - 16 \text{ if } \frac{Y}{Y_n} > 0.008856 \\ 903.3 \frac{Y}{Y_n} & \leq 0.008856 \end{cases} \quad (1)$$

$$\bar{a}^* = 500 \left[\left(\frac{X}{X_n} \right)^{1/3} - \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} \right] \quad (2)$$

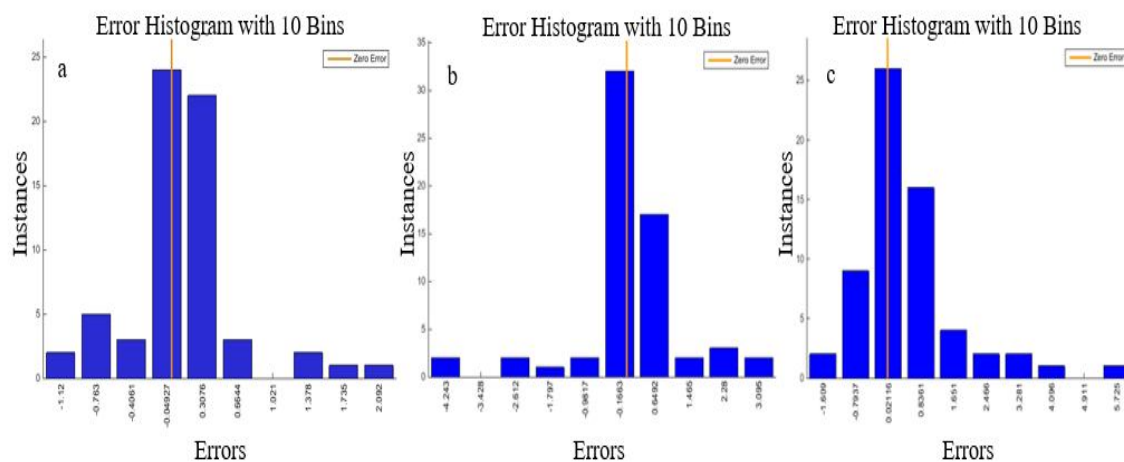
$$\bar{b}^* = 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} - \left(\frac{Z}{Z_n} \right)^{1/3} \right] \quad (3)$$

ساختار شبکه عصبی مورد استفاده

در این تحقیق از شبکه چندلایه پرسپترون با یک لایه مخفی استفاده شده است. تعداد نرون‌ها در لایه مخفی برابر با 25 در بهترین حالت به دست آمد. حداکثر تکرار شبکه برای آموزش برابر با 1000 و نرخ یادگیری برابر با 0/001 در نظر گرفته شده است. از تابع انتقال تانژانت سیگموئید (Tansig) و الگوریتم آموزشی Trainlm در ساختار شبکه استفاده شده است. متغیرهای ورودی شامل 7 متغیر شامل، تیمار دمایی (T) در سه سطح (شاهد، 15 و 5 درجه سانتی‌گراد)، کانال‌های رنگی (L, a, b) و میزان انحراف معیار کانال‌های رنگی (stdl, stda, stdb) است. متغیرهای خروجی نیز شامل قند، اسیدیت و سفتی بافت است. مرحله بعد از آماده‌سازی داده‌ها، نرمالیزه کردن آن‌ها است. تا مجموعه داده‌های آموزش و تست دارای توزیع آماری تقریباً یکنواختی شوند. همچنین باید این تبدیل در دامنه تغییرات مناسبی انجام تا شبکه به نقطه بهینه همگرا شود و از آن‌جا که تابع انتقال انتخاب شده برای نرون‌های لایه مخفی شبکه سیگموئید است، بنابراین بهترین دامنه تبدیل داده‌ها [0/1 - 0/9] است (Rohani et al, 2011). برای این منظور از نرمالیزاسیون خطی برای تبدیل داده‌ها استفاده شده است (رابطه 4).



شکل 5- نمودار عملکرد شبکه عصبی برای سه متغیر اسیدیتته (a)، سفتی (b) و قند (c)



شکل 6- هیستوگرام خطا برای سه متغیر اسیدیتته (a)، سفتی (b) و قند (c)

پیش‌بینی اسیدیتته برابر با 0/45، پیش‌بینی سفتی برابر با 0/85 و برای پیش‌بینی قند برابر با 0/88 است. به‌طور کلی نتایج نشان می‌دهد که روابط به‌دست آمده تنها برای پیش‌بینی فاکتورهای سفتی و قند از دقت کافی برخوردار هستند و پیش‌بینی اسیدیتته با استفاده از این روش با دقت غیرکاربردی امکان‌پذیر است.

شاخص‌هایی مانند اندازه، وزن، شکل، میزان مواد جامد محلول، اسیدیتته، بافت و عمر قفسه‌ای از ویژگی‌هایی هستند که در گزینش ارقام و ژنوتیپ‌های برتر انبه مورد توجه قرار می‌گیرند؛ زیرا شاخص‌های فیزیکی - بیوشیمیایی علاوه بر این که در تعیین بلوغ و کیفیت داخلی میوه مهم هستند، تعیین کننده نیاز بازار نیز می‌باشند (عباسی و همکاران، 1391).

در جدول 1 سایر فاکتورهای ارزیابی مدل شبکه عصبی به‌ترتیب برای سه متغیر اسیدیتته، سفتی و قند بیان شده است. مقدار RMSE کل که بیانگر میانگین مربعات خطا می‌باشد، برای متغیر اسیدیتته برابر با 0/58، برای متغیر سفتی 1/26 و برای متغیر قند برابر با 1/34 است. مقدار MAPE که بیانگر متوسط خطای پیش‌بینی شبکه عصبی است، برای اسیدیتته، سفتی و قند به‌ترتیب برابر با 9/53، 22/74 و 6/14 است. پارامتر EF بیانگر بازده مطلق شبکه است که بیشترین مقدار آن برای متغیر سفتی حاصل شده است.

در جدول 2 مدل‌های رگرسیونی خطی در سه فاز آموزش، اعتبارسنجی و فاز آزمون ارائه شده است. در فاز آموزش و اعتبارسنجی روابط به دست آمده از ضریب تبیین بالایی برخوردار هستند. در فاز آزمون مدل‌های حاصل شده مقدار ضریب تبیین مدل برای

جدول 1- فاکتورهای ارزیابی مدل شبکه عصبی مربوط به متغیرهای خروج

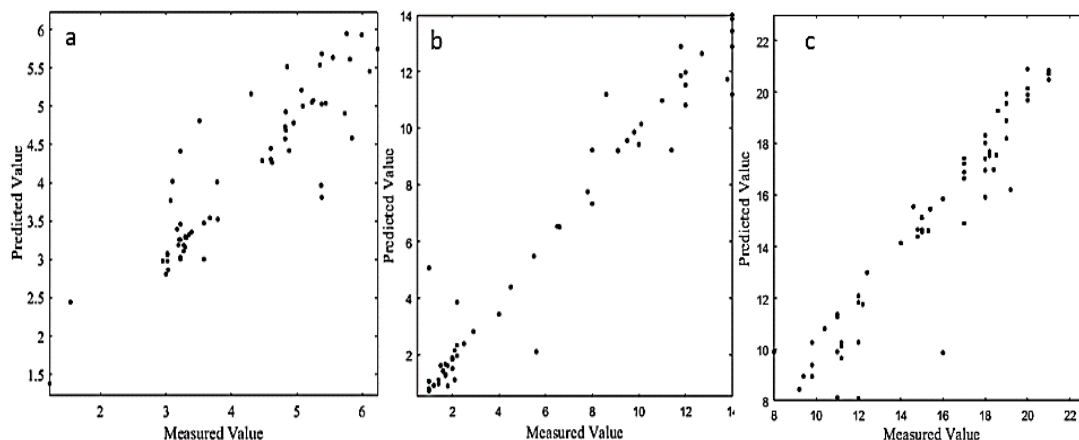
کل	فاز آزمون	فاز اعتبار سنجی	فاز آموزش	فاکتورهای ارزیابی	خروجی شبکه
اسیدیته	0/58	1/19	0/71	0/43	RMSE
	9/53	24/68	15/04	7/10	MAPE
	0/74	-0/43	0/37	0/87	EF
سفتی	1/26	2/67	2/22	0/73	RMSE
	22/74	109/29	47/09	9/69	MAPE
	0/93	0/28	0/82	0/98	EF
قند	1/34	3/43	1/67	0/70	RMSE
	6/14	20/65	7/73	4/25	MAPE
	0/88	0/07	0/72	0/97	EF

جدول 2- مدل های رگرسیونی پیش بینی کننده حاصل از شبکه عصبی MLP برای سه متغیر اسیدیته، سفتی و قند.

فاز آزمون	فاز اعتبار سنجی	فاز آموزش	فاکتورهای پیش بینی
اسیدیته	$PV=0.94 \cdot dv+0.36$	$PV=0.99 \cdot dv+0.52$	$PV=0.81 \cdot dv+0.68$
	$R^2=0.45$	$R^2=0.74$	$R^2=0.88$
سفتی	$PV=1.43 \cdot dv+0.07$	$PV=1.17 \cdot dv-2.39$	$PV=0.98 \cdot dv-0.04$
	$R^2=0.85$	$R^2=0.93$	$R^2=0.98$
قند	$PV=1.53 \cdot dv-10.61$	$PV=0.93 \cdot dv-0.08$	$PV=1 \cdot dv-0.24$
	$R^2=0.88$	$R^2=0.89$	$R^2=0.97$

پیش بینی شده و مقادیر واقعی به مراتب کمتر از حالت مربوط به متغیر اسیدیته است. به همین دلیل مقدار دقت به دست آمده برای فاکتورهای سفتی و قند بیشتر است. با توجه به ضرایب تبیین بالای معادلات برازش نشان داده شده در شکل 7 می توان نتیجه گرفت که مدل شبکه عصبی به خوبی توانسته اند مقادیر سفتی و قند انبه را برآورد نمایند.

در شکل 7 نمودارهای مربوط به مقادیر پیش بینی شده در مقابل مقادیر واقعی نمایش داده شده است. میزان انحراف از خط وسط نشان دهنده اختلاف بین مقادیر پیش بینی شده با مقادیر واقعی است. شکل 7 (a)، مقادیر پیش بینی شده برای متغیر اسیدیته را نمایش می دهد که بیانگر اختلاف بالای بین مقادیر واقعی و مقادیر پیش بینی شده است. در شکل های 7 (b) و 7 (c) که به ترتیب مربوط به پیش بینی متغیرهای سفتی و قند هستند، اختلاف بین مقادیر



شکل 7- نمایش مقادیر پیش بینی شده در مقابل مقادیر واقعی برای سه متغیر اسیدیته (a)، سفتی (b) و قند (c).

پژوهش نشان می‌دهد مقدار ضریب تبیین برای تخمین قند پرتقال برابر با 84 درصد و برای تخمین pH برابر با 83 درصد به‌دست آمده است. در پژوهش شمیلی و همکاران (1386)، نتایج نشان داد که بین مواد جامد محلول و سفتی میوه انبه با ویژگی‌های رنگی تصویر شامل a^* و L^* همبستگی وجود دارد. در بررسی دیگری، قابلیت استفاده از تصاویر دیجیتال و نرم‌افزار فتوشاپ برای اندازه‌گیری تغییرپذیری رنگ میوه خرمای مضافتی در طول دوره رسیدگی ارزیابی شده است (Afshari-Jouybari and Farahnaky, 2011).

در پژوهش مینایی و همکاران (2015) تخمین میزان قند موجود در ریشه‌های چغندر قند با استفاده از طیف‌سنجی فرسرخ نزدیک مورد مطالعه قرار گرفته است. از روش حداقل مربعات جزئی به‌منظور تخمین استفاده شد که میانگین مربعات خطا برای تخمین عیار برابر با 0/95 و برای مواد جامد محلول برابر با 1/7 به‌دست آمد. پژوهش Kondo و همکاران (2000) نشان داد که استفاده از ماشین بینایی و شبکه عصبی روشی مناسب برای تعیین اسیدیته و محتوای قند پرتقال است. متغیرهای مستقل شامل رنگ و ابعاد است. نتایج این

جدول 3- نتایج تحلیل حساسیت حاصل از حذف متغیرهای تأثیرگذار در مدل

وابسته	مستقل	RMSE	MAPE	R ²
سختی	همه متغیرها	0/58	9/52	0/75
	همه متغیرها به‌جز زمان	4/14	97/57	0/02
	همه متغیرها به‌جز L	8/55	190/48	0/01
	همه متغیرها به‌جز a	2/77	66/97	0
	همه متغیرها به‌جز b	4/45	111/24	0/15
	همه متغیرها به‌جز انحراف معیار L	8/61	204/69	0/17
	همه متغیرها به‌جز انحراف معیار a	7/44	167/71	0/05
	همه متغیرها به‌جز انحراف معیار b	6/18	153	0
رنگ	همه متغیرها	1/26	22/74	0/93
	همه متغیرها به‌جز زمان	11/38	424/11	0
	همه متغیرها به‌جز L	19/29	856/89	0/04
	همه متغیرها به‌جز a	7/9	296/12	0/14
	همه متغیرها به‌جز b	13/79	475/72	0/27
	همه متغیرها به‌جز انحراف معیار L	13/20	867/23	0/03
	همه متغیرها به‌جز انحراف معیار a	18/6	772/4	0
	همه متغیرها به‌جز انحراف معیار b	30/7	1279	0/03
میزان قند	همه متغیرها	1/33	14/6	0/91
	همه متغیرها به‌جز زمان	20/58	113/73	0
	همه متغیرها به‌جز L	17/11	66/24	0/06
	همه متغیرها به‌جز a	8/48	39/41	0/01
	همه متغیرها به‌جز b	10/88	62/31	0/09
	همه متغیرها به‌جز انحراف معیار L	16/50	100/34	0/11
	همه متغیرها به‌جز انحراف معیار a	13/21	81/46	0/10
	همه متغیرها به‌جز انحراف معیار b	17/13	103/55	0/04

لازم به ذکر است که در مقابل این روش استفاده از روش رنگ‌سنجی برای پیش‌بینی ترکیب‌های محصولات کشاورزی تحقیقات چندی روی میوه‌های مختلف مانند هلو (Ying et al., 2005)، زرد آلو (Carlini et al., 2000)، سیب (Lu et al., 2000) لازم به ذکر است که در مقابل این روش استفاده از روش

لایم (Clark et al., 2003)، آووکادو (Fan et al., 2009)، پرتقال (Shao et al., 2009) و گوجه‌فرنگی (Shao et al., 2007) صورت گرفته است و نتایج امیدوارکننده‌ای در این مورد گزارش نشده است.

لازم به ذکر است که در مقابل این روش استفاده از روش رنگ‌سنجی برای پیش‌بینی ترکیب‌های محصولات کشاورزی تحقیقات چندی روی میوه‌های مختلف مانند هلو (Ying et al., 2005)، زرد آلو (Carlini et al., 2000)، سیب (Lu et al., 2000)

همین دلیل مقدار دقت به‌دست‌آمده برای فاکتورهای سفتی و قند بیشتر است؛ بنابراین پیش‌بینی سن دو فاکتور با استفاده از شبکه عصبی mlp قابل انجام است. هیستوگرام خطا مربوط به سه مدل شبکه عصبی نشان داد وضعیت شبکه عصبی در دو حالت پیش‌بینی سفتی و قند انبه بهتر از حالت پیش‌بینی اسیدیته است. مقدار MAPE که بیانگر خطای پیش‌بینی شبکه عصبی به‌ترتیب برای سفتی، اسیدیته و قند برابر با 9/53، 22/74 و 6/14 به‌دست آمده است. مقایسه نتایج شبکه عصبی در مراحل آموزش و آزمون نشان داد که این تکنیک می‌تواند به‌عنوان یک روش مطمئن برای تخمین فاکتورهای سفتی و قند از دقت کافی مورد استفاده قرارگیرد و پیش‌بینی اسیدیته با استفاده از این روش با دقت غیرکاربردی امکان‌پذیر است. مقایسه معیارهای عملکردی مدل شبکه عصبی نشان داد که مدل‌های سفتی و قند بسیار نزدیک به یکدیگر هستند؛ در صورتی که مدل شبکه عصبی برای اسیدیته بیانگر اختلاف بالایی بین مقادیر واقعی و مقادیر پیش‌بینی شده است.

تشکر و قدردانی

در پایان لازم می‌دانیم از گروه مهندسی بیوسیستم دانشگاه فردوسی مشهد و گروه علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان کمال قدردانی و تشکر را به خاطر فراهم آوردن تجهیزات و امکانات موردنیاز به عمل آوریم.

در این پژوهش از تحلیل حساسیت به‌منظور تعیین اثر هر یک از متغیرها به‌صورت جداگانه در مدل پیش‌بینی استفاده شده است. در جدول 3 نتایج حاصل از تحلیل حساسیت بر روی مدل‌های شبکه عصبی برای سه متغیر اسیدیته، سفتی و قند گزارش شده است. به‌طور کلی نتایج حاصل از تحلیل حساسیت نشان می‌دهد در هر سه مدل حاصل‌شده حذف هر یک از متغیرهای مستقل سبب ایجاد خطای بزرگی در مدل شبکه عصبی می‌شود. بنابراین پیش‌بینی ویژگی‌های کیفی میوه انبه می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی باشد. نمی‌توان بیان کرد که تنها یک یا چند فاکتور خاص قابلیت این پیش‌بینی را دارند. علاوه بر عوامل ذکرشده در این پژوهش ممکن است عوامل دیگری مانند ابعاد میوه، وزن میوه، زمان برداشت و شرایط محیطی اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش عملکرد شبکه عصبی مصنوعی mlp در پیش‌بینی اسیدیته، سفتی و قند میوه انبه رقم کلک سرخ بررسی شد. از نتایج به‌دست‌آمده این‌طور نتیجه‌گیری می‌شود که مقادیر پیش‌بینی‌شده اسیدیته، سفتی و قند انبه توسط شبکه عصبی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با مقادیر واقعی آن‌ها نداشتند؛ به‌طوری‌که در پیش‌بینی اسیدیته میوه انبه با استفاده از ویژگی‌های رنگی دارای میانگین مربعات خطا نسبت به دو فاکتور سفتی و قند بیشتر است؛ به

منابع

- آدرکیش، پ. و شمیلی، م. 1394، تأثیر پوترسین و آب سرد بر ویژگی‌های کیفی و انبارمانی میوه انبه (*Mangifera indica* L.)، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، 12(47)، 65-74.
- پوردربانی، ر. قاسم زاده، ح. آقا گل‌زاده، ع. و بهفر، ح. 1388، امکان سنجی درجه‌بندی کیفی سیب با استفاده از پردازش تصویر، مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، 19 (1)، 75-85.
- خدابخشیان کارگر، ر. 1394، روش‌های کیفیت‌سنجی غیرمخرب محصولات کشاورزی از اصول تا اجرا، آموزش و ترویج کشاورزی، 272.
- خدابخشیان کارگر، ر. عمادی، ب. خجسته‌پور، م. گلزاریان، م.ر. و سازگارنیا، الف. 1394، کیفیت‌سنجی سریع دانه انار با استفاده از طیف‌سنجی مرئی/مادون قرمز نزدیک، فناوری‌های نوین غذایی، 2(4)، 103-114.
- دوستی‌ایرانی، الف. گلزاریان، م.ر. آق‌خانی، م.ح. و صدرنیا، ح. 1394، بررسی تغییرات رنگی و دمایی بافت لهیده شده سیب در طول زمان با استفاده از پردازش تصاویر مرئی و نقشه‌های گرمایی. پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، 11(5)، 677-693.
- سلمانی‌زاده، ف. نصیری، س.م. راحمی، م. و جعفری، ع.ع. 1392، امکان‌سنجی استفاده از جذب اشعه ایکس به عنوان یک روش غیرمخرب برای تعیین برخی از شاخص‌های کیفی میوه انار، علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، 27(3)، 335-341.
- شمیلی، م. گلزاریان، م.ر. آدرکیش، پ. و دوستی‌ایرانی، الف. 1396، استفاده از پردازش تصویر در برآورد خسارت وارده از سرما بر میوه انبه، نخستین کنفرانس بین‌المللی و دهمین کنگره ملی علوم باغبانی ایران، دانشگاه تربیت مدرس، 13-16 شهریورماه 1396.
- عباسی، م. حیدری، م. و دانشور، م.ح. 1391، ارزیابی اولیه خصوصیات میوه درختان گزینش شده انبه (*Mangifera indica* L.) در میناب، تولیدات گیاهی، 35(4)، 117-129.
- کلاتری، س. میرزاعلیان دستجردی، ع.م. بابالار، م. زمانی، ذ.الف. 1392، اثر تیمارهای پس از برداشت بر عمر قفسه‌ای و انباری میوه انبه برداشت شده در مراحل مختلف رسیدن، علوم باغبانی ایران، 44(1)، 43-59.

- گلزاریان، م.ر.، شمیلی، م.، دوستی‌ایرانی، الف. و آذرکیش، پ. 1395، تشخیص آسیب‌های سطحی ناشی از صدمات مکانیکی میوه انبه رقم کلک سرخ با استفاده از تکنیک پردازش تصاویر رنگی، پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، 12(5)، 652-662.
- گلزاریان، م.ر.، صادقی، ف.، قانع، ن. و کاظمی، ف. 1392، ارائه روشی کمی و کیفی در ارزیابی عملکرد فاکتورهای رنگی برای جداسازی گیاهان از پس‌زمینه به‌منظور خودکار کردن شناسایی تصویری گیاهان، هشتمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی (بیوسیستم) و مکانیزاسیون، 9 الی 11 بهمن 1392. دانشگاه فردوسی مشهد.
- محمدپور، الف. و سماوی، س. 1393، نکات فنی در برداشت، بسته‌بندی و نگهداری میوه انبه، مؤسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی. 1-26.
- میرحسینی، ع.، صادقی، ح. و مرادی، ح. 1397، پیش‌بینی برخی ویژگی‌های کیفی میوه انار با استفاده از روش غیرمخرب پردازش تصویر، علوم باغبانی ایران، 49(2)، 443-451.
- نیکبخت، ع.م.، توکلی‌هشجین، ت.، ملکفر، ر. و قبادیان، ب. 1389، کاربرد طیف‌سنجی رامان در بررسی غیرمخرب پارامترهای کیفی گوجه فرنگی، علوم و صنایع غذایی، 7(4)، 25-33.
- Afshari-Jouybari, H. & Farahnaky, A. 2011, Evaluation of Photoshop software potential for food colourimetry, *Journal of Food Engineering*, 106, 170-175.
- Arzani K. & Koushesh M. 2005, Enhancement of Sultana grape (*Vitis vinifera* L.) maturity by preveraison ethanol and methanol spray, *Indian Journal of Agricultural Science*, 75(10), 670-672.
- Carlini, P. Massantini, R. & Mencarelli, F. 2000, Vis-NIR measurement of soluble solids in cherry and Apricot by PLS regression and wavelength selection, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 236-242.
- Clark, C.J. McGlone, V.A. Requejo, C. White, A. & Woolf, A.B. 2003, Dry matter determination in 'Hass' avocado by NIR spectroscopy, *Postharvest Biology and Technology*, 29, 300-307.
- Doosti-Irani, O. Golzarian, M.R. Aghkhani, M.H. Sadrnia, H. & Doosti-Irani, M. 2016, Development of multiple regression model to estimate the apple's bruise depth using thermal maps, *Postharvest Biology and Technology*, 116, 75-79.
- Fan, G. Zha, J. Du, R. & Gao, L. 2009, Determination of soluble solids and firmness of apples by Vis/NIR transmittance, *Journal of Food Engineering*, 93, 416-420.
- Génard, M. Bertin, N. Borel, C. Bussièrès, P. Gautier, H. Habib, R. Lechaudel, M. Lecomte, A. Lescourret, F. Lobit, P. & Quilot, B. 2008. Towards a virtual fruit focusing on quality: modelling features and potential uses. *Journal of Experimental Botany*, 58(5): 917-928.
- Hertog, M. Nicholson, S.E. & Jeffery, P.B. 2004, the effect of modified atmospheres on the rate of firmness change of 'Hayward' kiwifruit, *Journal of the Postharvest Biology and Technology*, 31: 251-261.
- Jacobi, K. MacRae, E. & Hetherington, S. 2001, Postharvest heat disinfestations treatments of mango fruit (Review). *Scientia Horticulturae*. 89: 171-193.
- Kondo, N. Ahmad, U. Monta, M. & Murase, H. 2000, Machine vision based quality evaluation of Iyokan orange fruit using neural networks, *Computers and Electronics in Agriculture*, 29, 135-147.
- Léchaudel, M. & Joas, J. 2007. An overview of preharvest factors influencing mango fruit growth, quality and postharvest behaviour. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(4): 287-298.
- León, K. Mery, D. Pedreschi F. & León, J. 2006, Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images, *Food Research International*, 39, 1084-1091.
- Lu, R. Guyer, D. & Beaudry, R.M. 2000, Determination of firmness and sugar content of apple using NIR diffuse reflectance, *Journal of Texture Studies*, 31, 615-630.
- Mata, C. Duarte, M.E.M. Borges, F.F. & Barbacena, I.L. 2012, An adaptive threshold level for segmentation of grayscale images using image processing to sort mangoes by weight estimation, *Postharvest Technology in the Global Market*, 934, 943-948.
- Medlicott, A.P. Bhogal, M.O. & Reynolds, S.B. 1986. Changes in peel pigmentation during ripening of mango fruit (*Mangifera indica* var. Tommy Atkins). *Annals of Applied Biology*, 109(3): 651-656.
- Minaei, S. Bagherpour, H. Abdollahian Noghabi, M. Khorasani Fardvani, M.E. & Forughimanesh, F. 2016. A Comparative Study Concerning Linear and Nonlinear Models to Determine Sugar Content in Sugar Beet by Near Infrared Spectroscopy (NIR). *Journal of Food Biosciences and Technology*, 6(1): 13-22.
- More, T.A. Kambale, A.B. Karale, A.R. Garad, B.V. & Shirsath. H.K. 2004, Selection of seedling mango types for pickling characters, *Journal of Maharashtra Agricultural Universities*, 29, 348-349.
- Nordey, T. Léchaudel, M. Génard, M. & Joas, J. 2014, Spatial and temporal variations in mango colour, acidity, and sweetness in relation to temperature and ethylene gradients within the fruit. *Journal of plant physiology*, 171(17): 1555-1563.
- Pedreschi, F. Leon, J. Mery, D. & Moyano, P. 2006. Development of a computer vision system to measure the color of potato chips. *Food Research International*, 39(10): 1092-1098.
- Rathore, H.A. Masud, T. Sammi, S. & Soomro, A.H. 2007, Effect of Storage on Physico-Chemical Composition and Sensory Properties of Mango Variety Dashehari, *Pakistan Journal of Nutrition*, 6(2), 143-148.

- Rohani, A. Abbaspour-Fard, M.H. & Abdolahpour, S. 2011. Prediction of tractor repair and maintenance costs using Artificial Neural Network. *Expert Systems with Applications*, 38(7): 8999-9007.
- Roussos, P.A. Sefferou, V. Denaxa, N.K. Tsantili, E. & Stathis, V. 2011, Apricot (*Prunus arm eniaca* L.) fruit quality attributes and phytochemicals under different crop load, *Scientia Horticulturae*, 129, 472-478.
- Shao, Y.H. He, Y. Bao, Y.D. & Mao, J.Y. 2009, Near-infrared spectroscopy for classification of oranges and prediction of the sugar content, *International Journal of Food Properties*, 12, 644-658
- Shao, Y.H. He, Y. Gomez, A.H. Pereir, A.G. Qiu, Z. & Zhag, Y. 2007. Visible/near infrared spectrometric technique for nondestructive assessment of tomato 'Heatwave' (*Lycopersicum esculentum*) quality characteristics, *Journal of Food Engineering*, 81, 672-678.
- Tarkosova, J. & Copikova, J. 2000, Determination of carbohydrate content in bananas during ripening and storage by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 8, 21-26.
- Ying, Y.B. Liu, Y.D. Wang, J.P. Fu, X.P. & Li, Y.B. 2005, Fourier transforms near-infrared determination of total soluble solids and available acid in intact peaches, *American Society of Agricultural Engineers*, 48, 229-234.

Predicting quality characteristics of Mango of Kelk-e Sorkh variety using color image processing and artificial neural networks

O. Doosti Irani¹, A. Rohani², M. R. Golzarian³, M. Shamili⁴, P. Azarkish⁵

Received: 2018.12.17

Accepted: 2019.09.22

Introduction: The diversity and abundance in quality properties of agricultural products are leading factors to develop non-destructive methods. Machine vision and artificial intelligence are powerful techniques in detection of many physical, mechanical and chemical properties of agricultural products. Prior to exporting, fruits are sorted in terms of their shapes, volumes or weights. Non-destructively taste-based sorting can be of importance in terms of markability and application. Artificial Neural Network (ANN) has been introduced as a new method to predict quality parameters such as firmness, total sugar content (TSC) and pH of agricultural products and to grade the products accordingly.

Material and Methods: In this research, the quality properties of Mango (Kelke- Sorkh var) were predicted using the combination of image processing and artificial intellect techniques. The mango samples were harvested from the orchard in Minab, Hormozgan province in Iran. The samples were transferred to computer vision lab, room temperature of 24°C and 22% RH. The samples were divided into three groups for temperature treatment. They were kept at three temperature levels of 5°C, 15°C and 24°C (control group) for 48 hours. The sample were then placed in room temperature and were imaged every second day for 14 day period. After imaging, each sample was undergone destructive tests for determining their quality attributes including sugar content, firmness and pH. The images were taken by a digital camera in visible spectrum (Nikon Coolpix p510, Nikon Inc, Japan). The taken images were, then, transferred to Matlab software environment (Mathworks Inc, US) for analysis and processing. The color factors from regions of interest were extracted from the images in $L^*a^*b^*$ color space. The segmentation of images was performed by thresholding (threshold value of 0.3) the image of difference between red and blue channels of taken RGB images. The conversion of RGB color space to $L^*a^*b^*$ was done by converting RGB image to XYZ basic color space first and before converting X, Y, and Z basic color components to L^* , a^* , b^* color factors. The L^* represent the lightness in the image from black (0) to white (100). In this project, a multilayer perceptron neural network with a hidden layer was used. The optimum number of neurons in the hidden layer was found to be 25. The maximum iterations was set as 1000 and the learning rate was set as 0.001.

Results and discussions: The input variables to the network were temperature treatment at three levels (control, 5°C and 15°C), the color factors (L^* , a^* and b^*) and the variations of three color factors across the regions of interest (standard deviations of L^* , a^* and b^*). The output variables were sugar content, pH and texture firmness. The results showed that the accuracy of the ANN model on the prediction of pH, sugar content and firmness were 45%, 85 and 88%, respectively. Although the accuracy of ANN model for predicting pH from color factors was rather low, this model was able to predict firmness and sugar content with highly accurately. The histogram of errors among three ANN models also showed the ANN model for predicting firmness and sugar content performed better than that for predicting pH. The MAPE prediction error were 9.53, 22.74 and 6.14, respectively, for predicting firmness, pH and sugar content. Comparing the results from the network in training and testing stages showed that ANN can be considered as a reliable method for estimating quality factors of firmness and sugar content with high accuracy and estimating pH with rather non-applicable accuracy.

Keywords: Artificial Intelligence, Mechanical Properties, Postharvest Quality assessment.

1, 2 and 3. PhD. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Agricultural Machinery, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4. Assistant Professor, Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Hormozgan University, Iran.

5. PhD. student, Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Ferdowsi University of Mashhad

(* Corresponding author email address: m.golzarian@um.ac.ir)

کوتاه پژوهشی

مطالعه مقایسه‌ای خصوصیات فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی ژلاتین استخراج شده از پوست فیل ماهی (*Huso huso*) با روش شیمیایی و آنزیمی

زهراسکندری¹ - سید علی جعفرپور^{2*}

تاریخ دریافت: 1397/09/15

تاریخ پذیرش: 1398/03/19

چکیده

در این پژوهش ژلاتین پوست فیل ماهی از طریق روش آنزیمی به کمک آنزیم پپسین استخراج شد و برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی آن با ژلاتین استخراج شده از پوست فیل ماهی به روش شیمیایی مقایسه گردید. اثر سه متغیر مستقل دما در سه سطح 30، 40 و 50 درجه سانتی‌گراد، آنزیم در سه سطح 0/01، 0/055 و 0/1 وزنی - وزنی و pH در سه سطح 2 و 3 و 4 بر متغیر وابسته از قبیل تعیین وزن مولکولی (SDS-PAGE) و طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) و رفتارهای رئولوژیکی بررسی شد. در این پژوهش نمونه تیمار شده در دمای 30 درجه سانتی‌گراد، نسبت آنزیم 0/1 و pH=4 (تیمار 5) با 2466/36 گرم دارای بیشترین قدرت ژل، نمونه تیمار شده در دمای 40 درجه سانتی‌گراد، نسبت آنزیم 0/055 و pH=3 (تیمار 17) به‌عنوان نمونه مرکزی با قدرت ژل 909/92 گرم و نمونه تیمار شده در دمای 50 درجه سانتی‌گراد، نسبت آنزیم 0/01 و pH=2 (تیمار 19) با قدرت ژل 483/08 دارای کمترین میزان قدرت ژل بود. جهت بررسی متغیرهای وابسته توسط نرم‌افزار انتخاب شد. بر اساس نتایج SDS-PAGE، ژلاتین استخراج شده به روش آنزیمی (تیمار 5) زنجیره‌های α_1 و α_2 و پلیمرهایی با وزن مولکولی بالا همچون ترکیبات β نسبت به تیمار شیمیایی دارای باندهایی با وضوح بهتر بود. در بررسی آزمون FTIR ساختار مارپیچ سه‌گانه ژلاتین استخراج شده به کمک آنزیم و ژلاتین استخراج شده به روش شیمیایی شدت و تغییر مکان برخی از پیک‌ها جذب نسبتاً مشابهی داشتند. رفتارهای جریان در تیمار 5 نسبت به نمونه تهیه شده به روش شیمیایی نشان‌دهنده افزایش نقطه ذوب و نقطه بستن ژل و ویسکوزیته ظاهری در تمامی نرخ‌های برشی بود.

واژه‌های کلیدی: استخراج آنزیمی، ژلاتین، فیل ماهی، SDS-PAGE، FTIR، رفتارهای رئولوژیکی

مقدمه

بالایی دارد و از آن‌جایی که، بدون کلسترول، چربی و کربوهیدرات است اثرات مثبت ویژه‌ای بر سلامت انسان دارد.

ژلاتین یکی از مورد توجه‌ترین بیوپلیمرهای طبیعی است، که عمدتاً از پوست خوک تولید می‌شود. این منبع حدود 46% از ژلاتین تولیدی سالانه دنیا را در برمی‌گیرد پس‌از آن پوست گاو (29/4%) و استخوان گاو قرار دارد. اگرچه ژلاتین دام به اشکال مختلف و در ابعاد وسیع مصرف جهانی دارد، (Asher, 1999)، اما از سوی دیگر استفاده از آن به دلیل عقاید مذهبی (ممنوعیت مصرف هرگونه فرآورده مرتبط با گاو نزد هندوها و خوک در اسلام و یهودیت) و نیز شیوه‌های خاص زندگی مانند گیاه‌خواری با محدودیت‌هایی روبرو است. بنابراین تلاش برای یافتن منابع جایگزین مناسب برای محصولات غذایی در حال افزایش است. ژلاتین ماهی یکی از مناسب‌ترین جایگزین‌های ژلاتین پستانداران است که به‌عنوان غذایی حلال پذیرفته شده است. ژلاتین ماهی با ژلاتین پستانداران از نظر ترکیب‌های مختلف اسیدآمین به‌خصوص پرولین و هیدروکسی پرولین متفاوت بوده و این امر منجر

ژلاتین یک پروتئین رشته‌ای اصلی در استخوان‌ها، غضروف و پوست و قابل‌حل در آب است که توسط هیدرولیز جزئی از کلاژن به دست می‌آید. کیفیت ژلاتین استحصال خود تابع متغیرهای زیادی است و منبع، سن حیوان و نوع کلاژن بر خواص ژلاتین اثرگذار است (Bailey et al., 1998). این ماده قابلیت تولید ژل، خاصیت چسبندگی، شفاف‌کنندگی و قوام‌دهندگی دارد (Gilsenan and Ross-Murphy, 2000)، و به جهت خواص بی‌نظیر شیمیایی و فیزیکی کاربرد گسترده‌ای در صنایع غذایی و دارویی دارد (Yang et al., 2007). ژلاتین تهیه شده از رشته‌های کلاژن، قابلیت هضم

1 و 2- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی‌ارشد و دانشیار، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

(*) - نویسنده مسئول: (Email: a.jafarpour@sanru.ac.ir)
DOI: 10.22067/food.v16i1.76991

به بروز خواصی متفاوت از قبیل دمای ژله‌ای شدن، نقطه ذوب و قدرت ژل می‌شود. به‌منظور برطرف کردن یا کاهش برخی از مشکلات مرتبط با ژلاتین ماهی، راه‌کارهایی مانند استفاده از آنزیم برای استخراج، جهت بهبود استحکام و خصوصیات ژلاتین استخراج‌شده پیشنهاد شده است (Tong and Ying, 2013). آنزیم پپسین حیوانی (2, 23, 4, 3 EC) یک پروتئازهای آسپارتنیکی مهم در هیدرولیز پروتئین‌ها و با ویژگی‌های منحصر به فرد در برنامه‌های کاربردی صنعتی و تحقیقات پزشکی است (Zhao et al., 2011). پپسین در استخراج کلاژن (Nalinanon et al., 2007) و استخراج ژلاتین (Nalinanon et al., 2008) به‌کار می‌رود.

با توجه به تحقیقاتی که صورت گرفته است، فیل ماهی دارای پوستی با منبع غنی از ژلاتین است (مجتهدی و همکاران، 1392؛ مرتضوی و همکاران، 1387). بنابراین می‌توان از پوست آن یک ماده با ارزش همانند ژلاتین با کمک آنزیم پپسین تولید کرد و خواص بافتی آن را بهبود و ارتقا بخشید تا به‌صورت گسترده‌تر مورد استفاده قرار بگیرد. هدف از این مطالعه استخراج ژلاتین از پوست فیل ماهی خاویاری به کمک آنزیم پپسین و سپس بررسی اثر آنزیم بر بهبود خواص بافتی ژلاتین و ویژگی‌های عملکردی آن نسبت به ژلاتین استخراج‌شده به روش شیمیایی است.

مواد و روش‌ها

مواد مصرفی شامل سدیم کلرید، آنزیم پپسین (تایترکم، ایران)، سدیم کربنات، هیدروکلریک اسید 37٪، سدیم هیدروکسید (مرک آلمان)، پلی‌آکریل‌امید، متانول، استیک اسید، گلیسین، بتا مرکاپتو اتانول، پتاسیم برمید، SDS، Tris-Hcl، Dye-Glycerol، Commassie Blue G-250 می‌باشد.

پیش‌فرآوری و استخراج ژلاتین و اعمال فاکتورها

تهیه پوست و آماده‌سازی نمونه: آماده‌سازی پوست به روش Feng و همکارانش (2013) انجام شد. پوست فیل ماهی خاویاری (Huso huso) پرورشی با همکاری اداره شیلات استان مازندران از استخر پرورش ماهیان خاویاری واقع در شهرستان بابلسر بخش بهنمیر روستای میرود در شهریور ماه 1396 تهیه گردید و در یونولیت حاوی یخ به محل آزمایشگاه پایلوت فراوری محصولات شیلاتی دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی ساری انتقال داده شد. محلول 3/5٪ نمک طعام، جهت حذف پروتئین‌های غیرکلاژنی، و محلول 0/5٪ سدیم کربنات، جهت حذف چربی از پوست استفاده گردید. در ابتدا پوست‌ها با محلول 3/5٪ سدیم کلرید به نسبت 1:10 وزنی - حجمی مخلوط گردید. سپس مخلوط با سرعت 180 دور در دقیقه به مدت 6 ساعت به‌صورت مداوم هم‌زده شد و هر 3 ساعت محلول تعویض شد.

در مرحله بعد، مخلوط پوست و سدیم کلرید را از صافی گذرانده و شست‌وشو داده شد. سپس پوست‌ها با آب مقطر با نسبت 1:10 وزنی - حجمی با محلول 0/5٪ سدیم کربنات مخلوط گردید. پس از آن مخلوط با سرعت 180 دور در دقیقه به مدت 6 ساعت به‌صورت مداوم هم‌زده شد و هر 3 ساعت محلول عوض شد. در انتها پوست‌ها با آب مقطر شسته شده و فرایند استخراج انجام شد. استخراج به روش تانگ و همکارانش، (2013) با اندکی تغییر در مراحل استخراج انجام شد. استخراج ژلاتین با افزودن پوست پیش تیمار شده همراه با آب مقطر به نسبت (1:2/8) وزنی - حجمی در دماهای (30، 40 و 50) درجه سانتی‌گراد، درصد آنزیم (0/01، 0/055 و 0/1) وزنی - وزنی و pH (2، 3 و 4) به مدت 6 ساعت و 45 دقیقه در حمام آب گرم (Fan azma gostar, Iran) انجام شد به‌منظور تنظیم pH مناسب جهت فعالیت آنزیم در طول مدت استخراج هر 30 دقیقه یک‌بار pH توسط pH متر (CB 16 NW، انگلیس) اندازه‌گیری شد و برای رساندن آن به مقدار موردنظر از هیدروکلریک اسید و سدیم هیدروکسید 1 نرمال استفاده شد. پس از پایان استخراج مخلوط در حمام آب جوش به مدت 5 دقیقه برای غیرفعال کردن آنزیم‌ها قرار گرفت و از پارچه تنظیف عبور داده شد. محلول صاف‌شده با سرعت 3500 دور در دقیقه به مدت 20 دقیقه به‌منظور خالص‌سازی سانتریفوژ (Universal Centrifuge، ایران) شد و در نهایت توسط خشک‌کن انجمادی (operon, FDU-8624، کره جنوبی) خشک گردید. برای این منظور محلول ژلاتین در ظروف یک‌بارمصرف ریخته شدند، ابتدا در قسمت فریزر یخچال معمولی در دمای 18- قرار گرفتند، بعد از منجمد شدن نمونه‌ها، در داخل اتاقک خشک‌کن انجمادی در دمای 85- درجه سلسیوس قرار داده شدند تا فرایند خشک شدن تحت خلأ را سپری نمایند. در نهایت پودر لیوفیلیزه شده که به‌عنوان ژلاتین پوست فیل ماهی هستند، تهیه شد. پودرهای تولیدشده در کیسه‌های پلاستیکی در فریزر در دمای 18- درجه سانتی‌گراد تا زمان ارزیابی ویژگی‌های آن‌ها نگهداری شدند.

تخمین وزن مولکولی با روش سدیم دودسیل سولفات پلی‌آکریل‌امید ژل (SDS-PAGE)

اندازه‌گیری وزن مولکولی به روش Laemmli (1970) انجام شد. نمونه‌های ژلاتین به مقدار 5 mg/ml در آب مقطر با دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه حل شدند. بافر حاوی 20٪ بتا مرکاپتو اتانول اضافه شد. پس از دناتوره شدن در دمای 95 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه، نمونه‌های ژلاتین (20 میکروگرم) توسط SDS-PAGE با استفاده از 10٪ ژل حل‌شده و 5٪ ژل انباشته‌شده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. باندهای پروتئینی با استفاده از Coomassie Brilliant Blue G-250 رنگ‌آمیزی شدند. لدر مورد

استفاده در این پژوهش GeneDirex و محدوده وزن مولکولی آن از 6/5 تا 270 کیلودالتون بود.

جدول 1- سطوح متغیرهای آزمایشی جهت استخراج ژلاتین از پوست فیل ماهی

نوع متغیر	نماد	سطوح کدبندی شده
دما (°C)	A	+1 0 -1
نسبت آنزیم (w/w)	B	0/1 0/055 0/01
pH	C	2 3 4

جدول 2- تیماردهی تصادفی آزمایش بهینه‌سازی فاکتورها و شرایط ترتیبی مورد استفاده در فرآیند استخراج آنزیمی ژلاتین از پوست فیل ماهی

تیمار	دما (°C)	نسبت آنزیم (%)	pH
1	40	0/1	3
2	30	0/01	2
3	50	0/1	4
4	50	0/055	3
5	30	0/1	4
6	40	0/055	3
7	50	0/01	4
8	30	0/01	4
9	40	0/055	3
10	40	0/055	2
11	30	0/1	2
12	40	0/055	3
13	40	0/055	3
14	50	0/1	2
15	40	0/055	3
16	30	0/055	3
17	40	0/055	3
18	40	0/055	4
19	50	0/01	2
20	40	0/01	3
شیمیایی	75	صفر	صفر

طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

طیف‌های FTIR مطابق روش Al-Saidi و همکاران (2012) تهیه شد. طیف FTIR از دیسک‌های حاوی 10 میلی‌گرم نمونه خشک‌شده (میزان رطوبت: 16 گرم در 100 گرم نمونه) در حدود 90 میلی‌گرم برمید پتاسیم (KBr) به دست آمد.

رفتارهای رئولوژیکی

به‌منظور توصیف ویژگی‌های رفتاری رئولوژیکی (همچون ویسکوزیته و نقطه ذوب و بستن ژل در روبش دمایی) از

روش Norziah و همکاران (2009) استفاده شد. بدین منظور از رئومتر تنشی کنترل‌ی صفحه- صفحه (40 میلی‌متر، زاویه: 2 درجه و گپ: 52 میلی‌میکرون)، پس از خارج شدن نمونه‌ها از حمام آب گرم استفاده گردید. ویژگی‌های ویسکوالاستیک محلول ژلاتینی (3 درصد وزنی/ حجمی) در محدوده 5 تا 50 درجه سانتی‌گراد (روبش گرمایشی) و 50 تا 5 درجه سانتی‌گراد (روبش سرمایشی) با نرخ گرمایشی/ سرمایشی 1 درجه سانتی‌گراد بر دقیقه اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش به منظور بهینه‌سازی تیمارهای آزمایشی از طرح آماری روش سطح پاسخ (RSM) استفاده شد. به منظور بهینه‌یابی فرآیند استخراج آنزیمی ژلاتین از طرح مرکب مرکزی استفاده شد. بهینه‌سازی بر اساس قدرت ژل به عنوان شاخص در نظر گرفته شد. اثر متغیرهای مستقل شامل دما (۳۰، ۴۰ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد)، نسبت آنزیم (%0/01 w/w، %0/055 و %0/1) و pH (2، 3 و 4) در 3 سطح مورد ارزیابی قرار گرفت. مدل به دست آمده برای هر پاسخ بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA آزمون شد. جهت طراحی آزمایش، آنالیز نتایج، رسم نمودارها و بهینه‌یابی از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت (نسخه 7) استفاده شد. شاخص‌های اندازه‌گیری شده بر طبق معادله 1 مدل‌سازی شدند.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i \neq j} \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

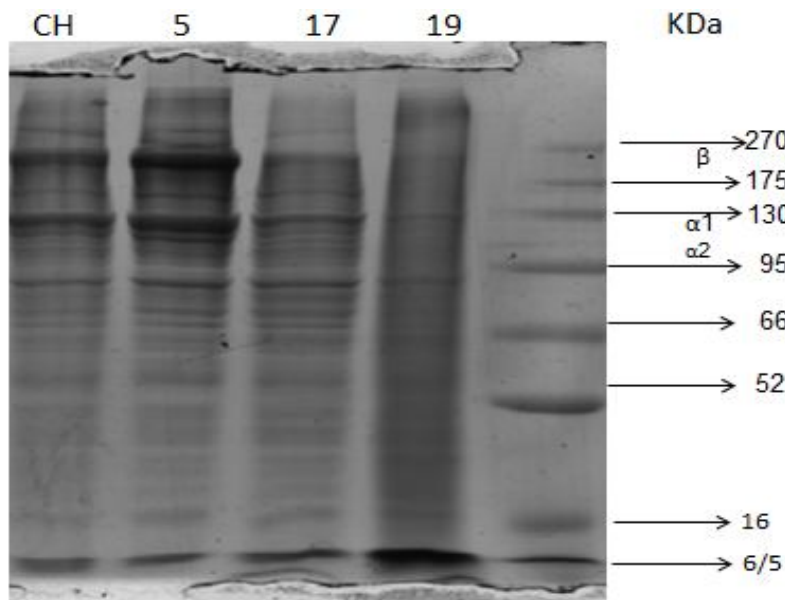
Y عبارت است از متغیر وابسته، β_0 ، β_i ، β_{ii} و β_{ij} ثابت‌های برآورد شده توسط مدل، X_i و X_j سطح متغیرهای مستقل بوده و

آن‌ها به ترتیب نمایانگر اثرات خطی، درجه دوم و اثرات متقابل متغیرهای X_1 ، X_2 و X_3 روی پاسخ می‌باشند

نتایج و بحث

تعیین وزن مولکولی پروتئین با استفاده از تکنیک پلی‌آکریل‌آمید ژل الکتروفورز (SDS-PAGE)

الگوی پروتئین ژلاتین استخراج شده از پوست فیل ماهی توسط آنزیم پیپسین (تیمار 5، 17 و 19) در مقایسه با نمونه ژلاتین استخراج شده از پوست فیل ماهی به روش شیمیایی در شکل 1 نشان داده شده است. زنجیره‌های $\alpha 1$ به طور واضح در نمونه استخراج شده به کمک آنزیم قابل مشاهده است که حدوداً 130 کیلودالتون می‌باشد (تیمار 5). زنجیره $\alpha 2$ در ژلاتین استخراج شده به روش شیمیایی نسبتاً ضعیف‌تر نشان داده شده است. زنجیره‌های با وزن مولکولی کمتر از 130 کیلودالتون در نمونه شیمیایی و همچنین در نمونه استخراج شده به روش آنزیمی با کاهش نسبت آنزیم به تدریج ناپدید شد (تیمار 19).



شکل 1- الگوی الکتروفورز نمونه‌های ژلاتین با نسبت آنزیم 0/1 وزنی - وزنی (تیمار 5)، نمونه تهیه شده با نسبت آنزیم 0/055 وزنی - وزنی (تیمار 17) و نمونه تهیه شده با نسبت آنزیم 0/01 وزنی - وزنی (19)، نمونه تهیه شده به روش شیمیایی (CH) - مارکر (راست)

به تیمار 5 نیز ضعیف‌تر است علاوه بر این می‌توان مشاهده کرد که در ژلاتین استخراج شده به روش آنزیمی نسبت زنجیره $\alpha 1$ / $\alpha 2$ حدود 2 است (نسبت ذاتی در کلاژن I)، که نشان می‌دهد ساختار ذاتی ژلاتین حفظ شده است. پلیمرها با وزن مولکولی بالا همچون ترکیبات β با وزن مولکولی 270 کیلودالتون که حاصل پایداری حرارتی

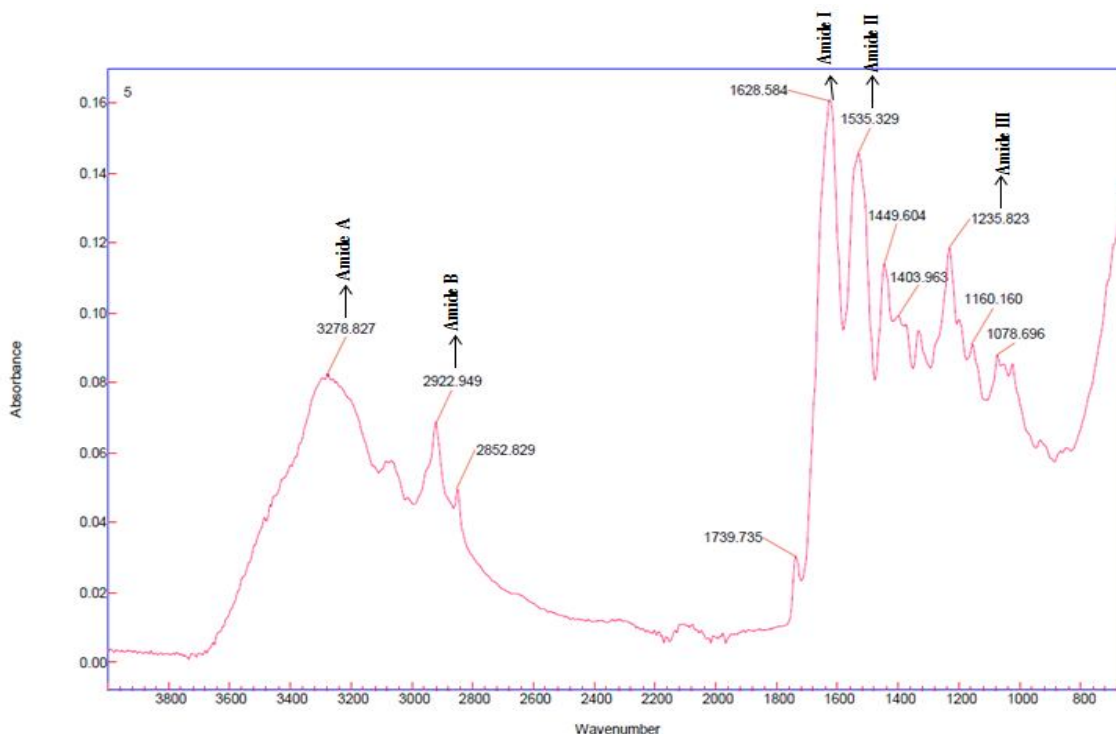
ژلاتین استخراج شده به روش آنزیمی حاوی زنجیره‌های $\alpha 1$ و $\alpha 2$ می‌باشد. در مقدار متوسط آنزیم (تیمار 17) زنجیره‌های $\alpha 2$ به طور نسبتاً ضعیف‌تری نسبت به مقدار بیشینه آنزیم (تیمار 5) مشاهده شده است و این زنجیره‌ها در مقدار کمینه آنزیم (تیمار 19) تقریباً محو شده است. این زنجیره‌ها در ژلاتین استخراج شده به روش شیمیایی نسبت

ساخته شده است. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان بیان داشت که استخراج آنزیمی ژلاتین در مقایسه با روش شیمیایی استخراج می‌تواند به‌طور مؤثرتری منجر به حفظ خصوصیات کیفی ژلاتین استخراجی گردد.

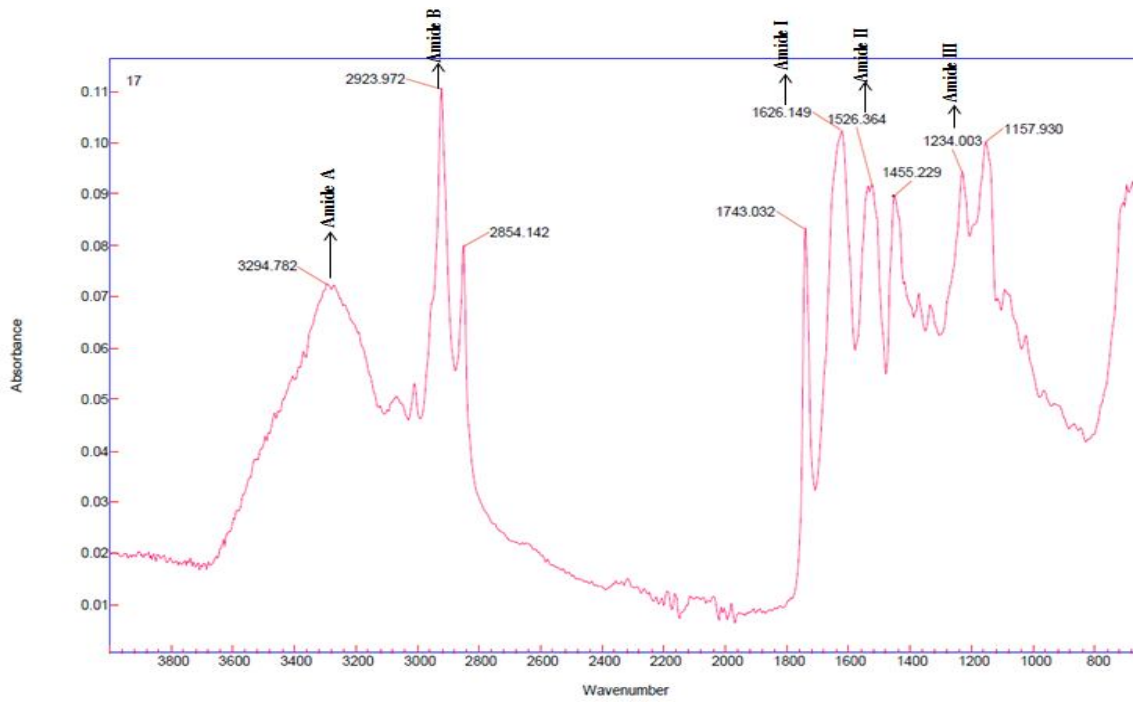
آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری طیف‌سنجی مادون قرمز ژلاتین استخراج‌شده در شکل‌های 2، 3، 4 و 5 آورده شده است. نوارهای جذبی در منطقه آمید از جمله باند آمید A، آمید I، آمید II، آمید III و آمید B بررسی گردید. بیشترین و کمترین میزان طول موج آمید A مربوط به تیمار 17 و تیمار 19، بیشترین و کمترین میزان طول موج آمید I مربوط به تیمار 5 و تیمار 19، بیشترین و کمترین میزان طول موج آمید II مربوط به تیمارهای استخراج‌شده به روش شیمیایی و تیمار 17، بیشترین و کمترین میزان نسبت آمید III به آمید 1454 (Amide III/Amide 1454) مربوط به تیمار 5 و 19 می‌باشد و بیشترین و کمترین میزان طول موج آمید B مربوط به تیمار 19 و 5 می‌باشد.

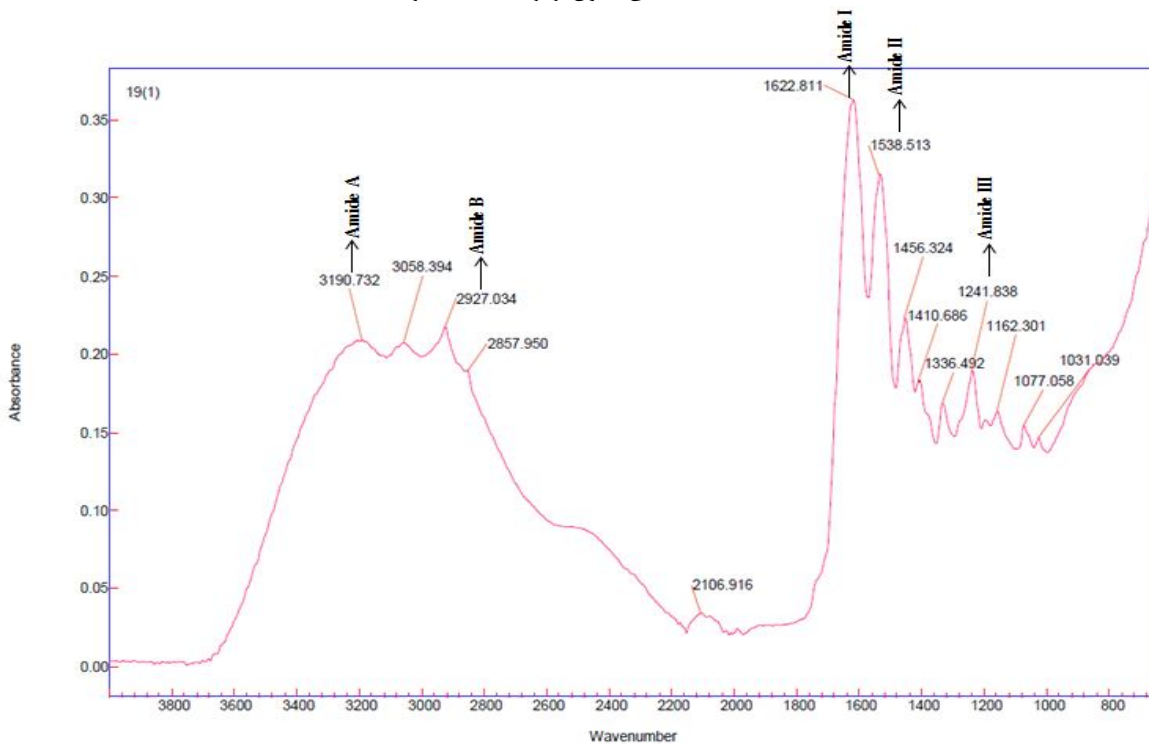
باند‌های حفظ‌شده در استخراج آنزیمی است، نسبت به نمونه استخراج‌شده به روش شیمیایی به‌طور واضح‌تری قابل مشاهده می‌باشد، همان‌طور که باندهای با تراکم بیشتر در بالای ژل پلی‌آکریل‌آمید تأییدکننده این مطلب می‌باشد (تیمار 5). همچنین پپتیدها با وزن مولکولی پایین در ژلاتین استخراج‌شده به روش آنزیمی مشاهده شد، که می‌تواند به علت شکسته شدن جزئی ژلاتین در طول تورم توسط پپسین باشد (تیمار 5 و 17). این نتایج با مشاهدات Jridi و همکاران (2015)، که نشان دادند پپتیدهای با وزن مولکولی کم در ژلاتین استخراج‌شده توسط پپسین از ماهی مرکب (*Octopus vulgaris*) درصد کمی دارند، مطابقت دارد. به‌طور کلی استخراج آنزیمی بر طول زنجیره پلی‌پپتیدی و خواص عملکردی ژلاتین تأثیر دارد و منجر به حفظ ساختار مارپیچ سه‌گانه ژلاتین نهایی می‌شود. Feng و همکاران (2013) در بهینه‌سازی استخراج و خصوصیات کلاژن تهیه‌شده از پوست ماهی خاویار چینی (*Acipenser sturio Linnaeus*) به کمک آنزیم مشاهده کردند که الگوهای ژل الکتروفورز پوست ماهی خاویار به دلیل استفاده از آنزیم برای استخراج حاوی کلاژن نوع I است که از زنجیره α و زنجیره β



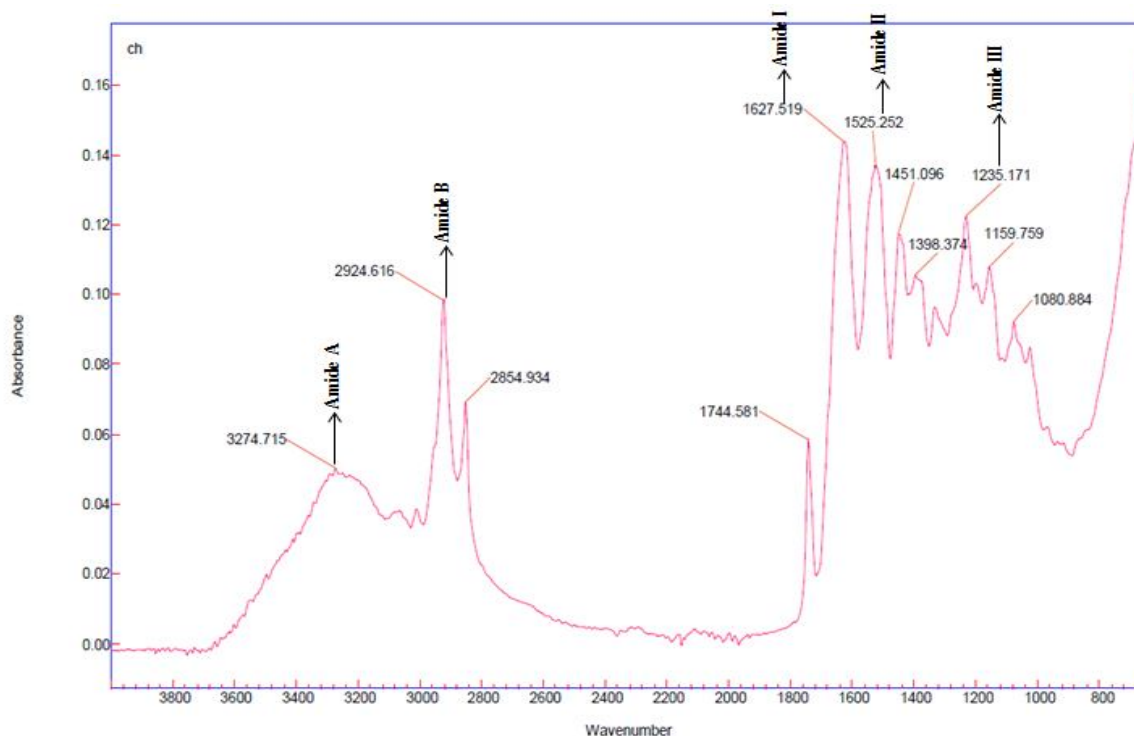
شکل 2- طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) تیمار 5



شکل 3- طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) تیمار 17



شکل 4- طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) تیمار 19



شکل 5- طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) تیمار شیمیایی

در نتیجه این امر باعث کاهش طول موج آمید A می‌شود (Benjakul *et al.*, 2009). در مطالعه‌ای که Matmaroh و همکارانش (2011)، خصوصیات کلاژن محلول در اسید (ASC) و کلاژن محلول در پپسین (PSC) تهیه‌شده از بزماهی طلایی خال‌دار (*Parupeneus heptacanthus*) را بررسی کردند، پیک آمید A برای ASC و PSC به ترتیب در طول موج‌های 3269 cm^{-1} و 3294 cm^{-1} مشاهده شد.

پیک جذب آمید B در محدوده 2922 cm^{-1} اتفاق می‌افتد (Feng *et al.*, 2013). پیک‌های جذب آمید B در این مطالعه به ترتیب برای تیمارهای 5 (شکل 2)، 17 (شکل 3)، 19 (شکل 4) و نمونه تهیه‌شده به روش شیمیایی در طول موج‌های: $2922/949\text{ cm}^{-1}$ ، $2923/972\text{ cm}^{-1}$ ، $2927/034\text{ cm}^{-1}$ و $2924/616\text{ cm}^{-1}$ یافت شدند. در مطالعه Feng و همکاران (2013) که در رابطه با بهینه‌سازی استخراج و خصوصیات کلاژن تهیه‌شده از پوست ماهی خاویاری چینی (*Acipenser sturio*) (Linnaeus) به کمک آنزیم صورت گرفت، پیک آمید B در طول موج 2920 cm^{-1} - 2922 cm^{-1} یافت شد.

پیک جذب آمید I در محدوده 1600 cm^{-1} - 1700 cm^{-1} اتفاق می‌افتد (Payne and Veis, 1988). پیک آمید I با ارتعاش کششی C=O یا پیوند هیدروژنی به واسطه COO- همراه است. این باند برای تجزیه و تحلیل اسپکتروسکوپی مادون قرمز ساختار ثانویه پروتئین‌ها مفیدتر می‌باشد (Feng *et al.*, 2013). پیک‌های جذب آمید I در این مطالعه به ترتیب برای تیمارهای 5 (شکل 2)، 17 (شکل 3)، 19

نوارهای جذبی در منطقه آمید از جمله باند آمید A، آمید I، آمید II، آمید III و آمید B، که مربوط به درجه نظم مولکولی و درگیری با ساختار مارپیچ سه‌گانه هلیکس کلاژن هستند، به ترتیب مربوط به ارتعاش کششی N-H، ارتعاش کششی C=O (Benjakul *et al.*, 2009)، ارتعاش خمشی N-H به همراه ارتعاش کششی C-N (Ahmad *et al.*, 2010)، ترکیب پیک‌های بین ارتعاش کششی CN و تغییر شکل NH در خمیدگی سطح توسط پیوندهای آمیدی و همچنین جذب ناشی از ارتعاش جنبانه‌ای توسط گروه‌های CH₂ اسکلت گلیسین و زنجیره‌های جانبی پرولین، (Plepis *et al.*, 1996) و کشش نامتقارن CH₂ (Abe and krimm, 1972) هستند. پیک جذب آمید A در محدوده 3400 cm^{-1} - 3440 cm^{-1} اتفاق می‌افتد (Sai and Babu, 2001). پیک‌های جذب آمید A در این مطالعه به ترتیب برای تیمارهای 5 (شکل 2)، 17 (شکل 3)، 19 (شکل 4) و نمونه تهیه‌شده به روش شیمیایی (شکل 5) در طول موج‌های $3278/827\text{ cm}^{-1}$ ، $3278/782\text{ cm}^{-1}$ ، $3294/782\text{ cm}^{-1}$ و $3274/715\text{ cm}^{-1}$ مشاهده گردید. زمانی که گروه NH یک پپتید در پیوند هیدروژنی شرکت کرده است، وضعیت باند آمید A به یک طول موج کمتر، حدود 3300 cm^{-1} تغییر خواهد کرد (Doyle *et al.*, 1975). جابجایی به فرکانس‌های پایین برای ژلاتین استخراج‌شده با شرایط مختلف ممکن است به تخریب ژلاتین و واکنش گروه آمین آزاد ژلاتین تخریب‌شده با سایر گروه‌های واکنشی مرتبط باشد،

(شکل 4) و نمونه تهیه شده به روش شیمیایی (شکل 5) در طول موج های $1622/811\text{ cm}^{-1}$ ، $1626/149\text{ cm}^{-1}$ ، $1628/584\text{ cm}^{-1}$ و $1627/519\text{ cm}^{-1}$ یافت شدند. بالاتر بودن طول موج آمید I، به معنای واکنش بیشتر $\text{C}=\text{O}$ با زنجیره های مجاور از طریق پیوند هیدروژنی شکل گرفته است (تیمار 5 نسبت به تیمار شیمیایی). به طور کلی، طول موج پایین تر باندها مربوط به پتانسیل بالای پیوند هیدروژنی است (Li et al., 2004). در مطالعه Kittiphattanabawon و همکاران (2010) که در رابطه با کلاژن کوسه بمبک قهوه ای مایل به زرد (*Chiloscyllium punctatum*) صورت گرفت، پیک آمید I به ترتیب برای ASC و PSC در طول موج های 1631 cm^{-1} و 1635 cm^{-1} یافت شد.

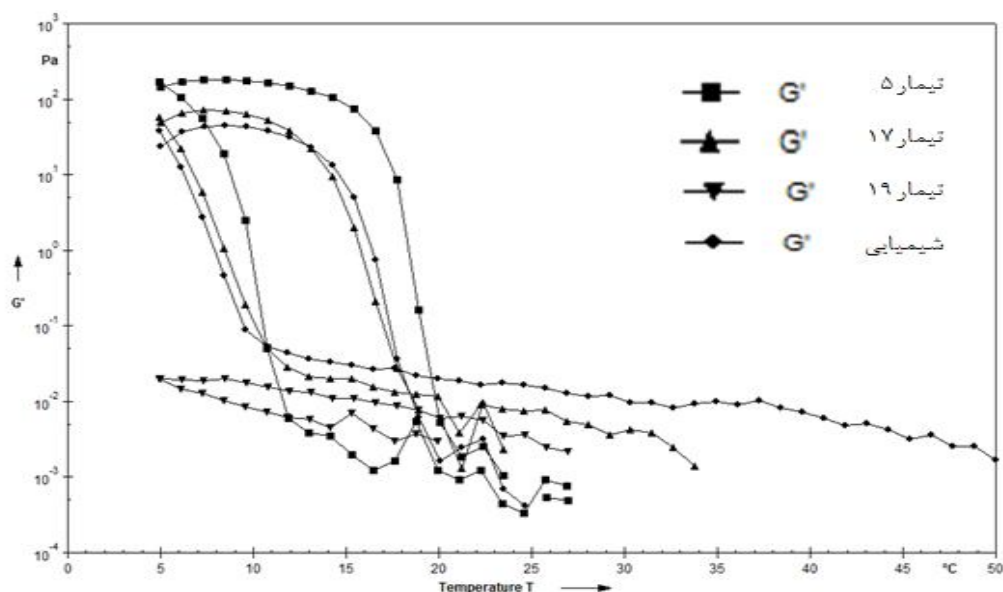
پیک جذب آمید II معمولاً در محدوده $1550-1600\text{ cm}^{-1}$ رخ می دهد، و تغییر به طول موج های پایین تر نشان دهنده وجود باندهای هیدروژنی است (Ahmad et al., 2010). پیک های جذب آمید II در این مطالعه به ترتیب برای تیمارهای 5 (شکل 2)، 17 (شکل 3)، 19 (شکل 4) و نمونه تهیه شده به روش شیمیایی (شکل 5) در طول موج های $1538/513\text{ cm}^{-1}$ ، $1526/364\text{ cm}^{-1}$ ، $1535/329\text{ cm}^{-1}$ و $1525/252\text{ cm}^{-1}$ مشاهده شد. در مطالعه Feng و همکاران (2013) که در رابطه با بهینه سازی استخراج و خصوصیات کلاژن تهیه شده از پوست ماهی خاویاری چینی (*Acipenser sturio* Linnaeus) به کمک آنزیم صورت گرفت، پیک آمید II در طول موج $1536-1544\text{ cm}^{-1}$ گزارش شد.

پیک آمید III ترکیب پیک های بین ارتعاش کششی CN و تغییر شکل NH در خمیدگی سطح توسط پیوندهای آمیدی و همچنین جذب ناشی از ارتعاش جنبانه ای توسط گروه های CH_2 اسکلت گلیسین و زنجیره های جانبی پرولین است (Plepis et al., 1996). بنا به گزارش Kittiphattanabawon و همکاران (2010) نسبت آمید III به آمید 1454 (Amide III/Amide 1454) یک شاخص اندازه گیری برای حفظ یکپارچگی ساختار مارپیچ سه گانه کلاژن است که باید بالاتر یا برابر با 1 باشد. شاخص های پایین تر نشان دهنده دناتوراسیون می باشد. در مطالعه حاضر این نسبت به ترتیب برای تیمارهای 5 (شکل 2)، 17 (شکل 3)، 19 (شکل 4) و نمونه تهیه شده به روش شیمیایی (شکل 5): $1/06$ ، $1/05$ و $0/85$ و $1/04$ بود. ساختار سه گانه هلیکس ژلاتین استخراج شده به کمک آنزیم (تیمار 5 و 17) و ژلاتین استخراج شده به روش شیمیایی به دلیل اینکه نسبت جذب مشابهی بین بیشترین پیک آمید III و پیک آمید 1454 را نشان دادند، مشابه بودند (به ترتیب برای تیمار 5، 17 و شیمیایی: $1/06$ ، $1/05$ و

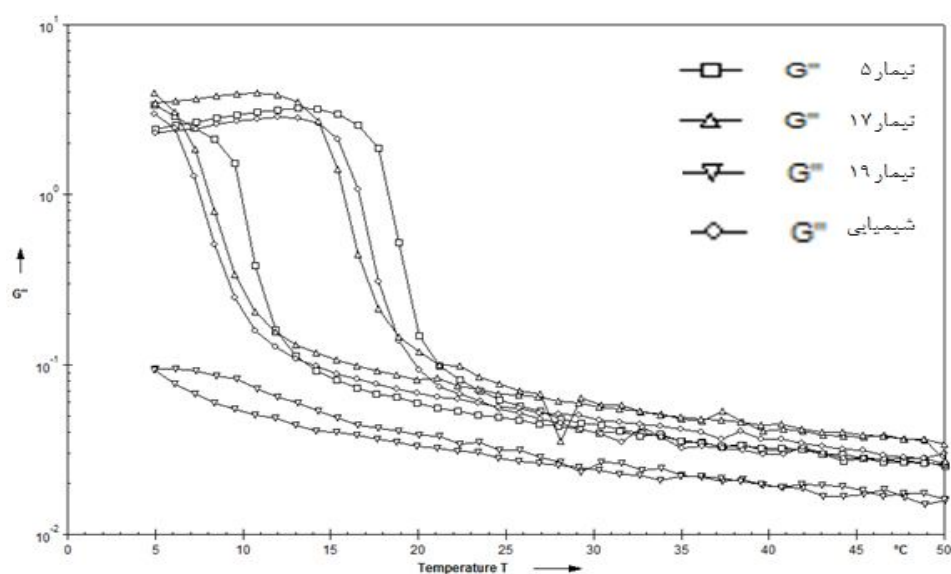
$1/04$). شاخص هایی که تقریباً 1 است، تأیید می کند که مارپیچ هلیکس هر دو ژلاتین استخراج شده به روش شیمیایی و استخراج شده به کمک پپسین هنوز وجود داشت و بخش زیادی از ساختار بین مولکولی هنوز حفظ شده بود. پایین بودن این نسبت در تیمار 19 به احتمال خیلی زیاد به دلیل آبکافت و فعالیت زیاد آنزیم در محدوده $\text{pH}=2$ می باشد که به دنبال آن کوتاه شدن زنجیره های پلی پپتیدی پروتئین اتفاق می افتد و در نهایت جداسازی باندهای آمیدی به طور مؤثر انجام نشده است. در مطالعاتی که Matmaroh و همکاران (2011)، خصوصیات کلاژن محلول در اسید و کلاژن محلول در پپسین تهیه شده از بزماهی طلایی خال دار (*Parupeneus heptacanthus*) را بررسی کردند، نسبت جذب مشابهی بین بیشترین پیک آمید III و پیک 1450 cm^{-1} برای ASC و PSC مشاهده شد. آن ها نتیجه گرفتند که ساختار مارپیچ سه گانه هلیکس در هر دو کلاژن وجود داشت.

نتایج آنالیز نقطه ذوب و نقطه بستن ژلاتین توسط آزمون روش دمایی

رفتار مدول های ویسکوالاستیک تیمارهای استخراج شده به کمک آنزیم پپسین (تیمار 5، 17 و 19) و نمونه ای که به روش شیمیایی تهیه شده بود، در شکل 6 و 7 نشان داده شده است. در دمای پایین تر از 20°C درجه سانتی گراد، مدول ذخیره یا الاستیک (G') و مدول افت یا گرانبوی (G'') با افزایش دما کاهش پیدا کرده و مدول الاستیک بزرگ تر از مدول افت شده است ($G' > G''$) که نشان دهنده این مسئله است که نمونه ها هنوز حالت ژله ای دارند (به استثناء تیمار 19 که ضعیف ترین قدرت ژلی را دارا بود). در دماهای تقریباً پایین تر از 20°C درجه سانتی گراد بین نمونه تیمارهای استخراج شده به کمک آنزیم در مقایسه با نمونه استخراج شده به روش شیمیایی یعنی در تیمار 5 و تیمار 17، مدول الاستیک و مدول افت از نظر مقدار عددی اندکی بیشتر از نمونه تهیه شده به روش شیمیایی می باشد. نقطه ذوب ژلاتین فیل ماهی به ترتیب در تیمارهای 5، 17 و نمونه تهیه شده به روش شیمیایی: $18/39$ ، $15/78$ و $16/23$ درجه سانتی گراد بود. تیمار 19 به دلیل مقاومت بسیار پایین ژل در برابر حرارت خیلی سریع از هم گسسته شده و دارای نقطه ذوب معینی نبود. نقطه بستن ژل در ژلاتین فیل ماهی به ترتیب در تیمار 5، 17 و نمونه استخراج شده به روش شیمیایی: $9/78$ ، $8/787$ و $8/279$ بوده است. لازم به ذکر است که تیمار 19 به دلیل گسستگی ساختار قادر به ایجاد ژل نبود.



شکل 6- عملکرد مدول ذخیره یا الاستیسیته (G') در روبش گرمایشی و سرمایشی



شکل 7- عملکرد مدول افت یا گرانیوی (G'') در روبش گرمایشی و سرمایشی

در تیمار 19 با زنجیره‌های پپتیدی بلندتر بخش جانبی پلیمر مرتبط است، زیرا این بخش‌ها طی کاهش دما نمی‌توانند با ایجاد اتصالات بین‌مولکولی به شکل مارپیچ سه‌تایی پایدار درآیند، به‌عبارتی‌دیگر ظرفیت بازسازی (رناتوراسیون) پایینی دارند. اما به‌تدریج با افزایش دما مدول ذخیره (G') تیمار 5 بزرگ‌تر از نمونه استخراج‌شده به روش شیمیایی شد، که نشان‌دهنده مقاومت دمایی نمونه استخراج‌شده به کمک آنزیم است. همچنین وقتی دما بیشتر افزایش پیدا کرد، هر دو

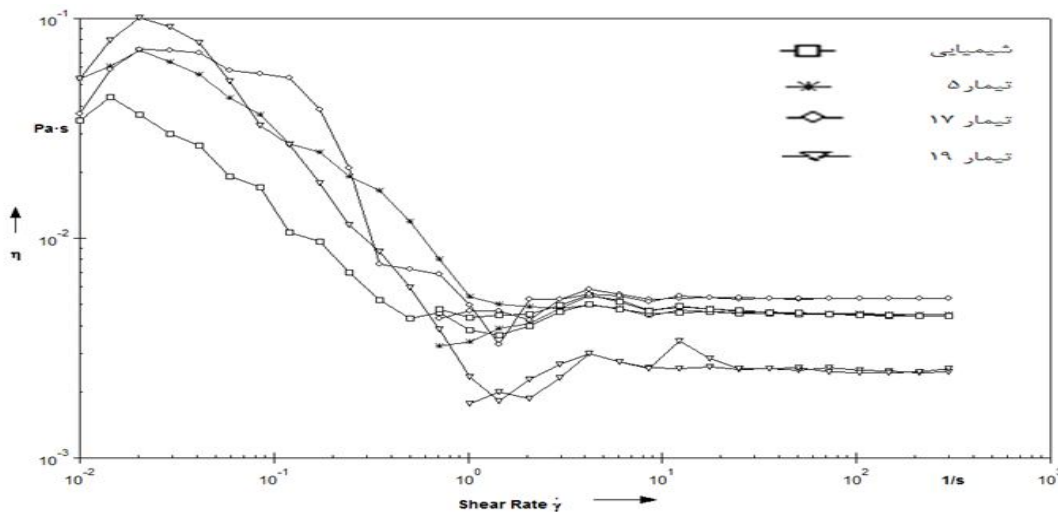
در پژوهش حاضر درواقع با افزایش نسبت آنزیم و pH و کاهش دما، مقدار عددی مدول الاستیک در دمای پایین‌تر از 20 درجه سانتی‌گراد در تیمار 5 و 17 نسبت به نمونه استخراج‌شده به روش شیمیایی اندکی افزایش یافت، اما در تیمار 19 مدول الاستیک و ویسکوز کمتر از تیمار 5، 17 و نمونه استخراج‌شده به روش شیمیایی شد یعنی با افزایش دما و کاهش pH و نسبت آنزیم مقدار عددی مدول الاستیک و ویسکوز کاهش یافت. این کاهش مدول الاستیک

در رویش سرمایشی مدول الاستیک و مدول افت افزایش پیدا کردند و این افزایش تا زمانی است که G' و G'' در بعضی نقاط همدیگر را قطع کرده اند ($G' = G''$). این نقطه یا نقاط در رویش سرمایشی (cooling scan) به عنوان نقطه بستن ژل تعریف شده است. در این مطالعه، نقطه بستن ژل به ترتیب برای تیمار 5، 17 و نمونه استخراج شده به روش شیمیایی 8/279، 8/787 و 9/78 درجه سانتی گراد می باشد.

ویسکوزیته ظاهری

در شکل 8 نمودار ویسکوزیته ظاهری نمونه های استخراج شده به کمک آنزیم پپسین (تیمار 5، 17 و 19) در مقایسه با نمونه استخراج شده به روش شیمیایی نشان داده شد. در تمام نمونه های ژلاتین استخراج شده به کمک پپسین و با روش شیمیایی ابتدا یک شاخص تنش تسلیمی (افزایش ویسکوزیته در ابتدای نمودار) و سپس رفتار غیرنیوتنی از نوع رقیق شونده با برش قابل مشاهده است. درواقع در رفتار سودوپلاستیک، ویسکوزیته سیال وابسته به سرعت برشی بوده و با افزایش سرعت برشی کاهش پیدا کرده است. در رفتارهای غیرنیوتنی رابطه بین تنش و سرعت برش خطی نیست. ویسکوزیته غیرنیوتنی تیمارهای تهیه شده به روش آنزیمی (به جز تیمار 19) در مقایسه با نمونه تهیه شده به روش شیمیایی تقریباً در تمامی نرخ ها یا سرعت برشی بالاتر بوده است.

مدول (G' و G'') به طور قابل توجهی کاهش پیدا کرده اند. خواص نقطه ذوب در ژلاتین فیل ماهی عمدتاً به فراکسیون های مولکولی در محدوده آلفا ارتباط دارد. نقطه ذوب در نمونه های ژلاتین با افزایش زنجیره آلفا افزایش یافته است (تیمار 5). درواقع الیگومرها با وزن مولکولی بالا توانایی بازسازی ژلاتین و تشکیل مجدد ساختارهای مارپیچی منظم و تثبیت و جهت گیری آب در کنار ماکرومولکول ها را نشان می دهند (Sims et al., 1997). در نتیجه کاهش انعطاف پذیری مولکول های ژلاتین، نقطه ذوب افزایش می یابد. در تیمار 5 به دلیل هیدرولیز پایین آنزیم پپسین در آن pH ساختار آلفا ژلاتین بیشتر حفظ شد و در نتیجه در دمای بالاتری ذوب شد (18/39 درجه سانتی گراد). این مطالعه با نتایج مجتهدی و همکاران (1392)، که اثر زمان های مختلف پیش فراوری اسیدی و قلیایی بر ویژگی های ژلاتین پوست ماهی خاویار ایرانی بلوگا (*Huso huso*) را بررسی کردند و دریافتند با افزایش زمان، حذف ناخالصی های نمونه های ژلاتین بیشتر و در نتیجه زنجیره آلفا و نقطه ذوب افزایش یافت، مطابقت داشت. در بررسی نقطه ذوب ژل باید به ترکیب ایمینواسیدی ژلاتین هم توجه داشت. حضور این دو اسید آمینه (پروлін و هیدروکسی پروлін) باعث افزایش نقطه ذوب ژل می شود (Norland R, 1990). تیمار 19 به دلیل هیدرولیز بالای آنزیم در pH=2 ساختار مارپیچ سه گانه خود را از دست داده است همان طور که در شکل 1 مشاهده شد زنجیره های آلفا در تیمار 19 به زحمت قابل رویت است و تقریباً از دست رفته است.



شکل 8- نمودار ویسکوزیته ظاهری نمونه های استخراج شده به کمک آنزیم پپسین، قوی ترین نمونه (تیمار 5)، تیمار مرکزی (تیمار 17) و ضعیف ترین نمونه (تیمار 19) و نمونه تهیه شده به روش شیمیایی.

ظاهری است (Rao and Kenny, 1999). Binsi و همکاران (2009) خواص عملکردی و رئولوژی ژلاتین استخراج شده از پوست

در واقع برش باعث اختلال در ساختار نمونه می شود. افزایش ویسکوزیته در نرخ های برشی پایین نشان دهنده یک تنش تسلیمی

ترتیب در تیمار 19، تیمار تهیه‌شده به روش شیمیایی، تیمار 17 و سپس تیمار 5 قابل‌رؤیت می‌باشد (شکل 8).

نمونه تهیه‌شده در pH بالا به دلیل فعالیت پایین آنزیم در این pH دارای میزان کمتر هیدرولیز و کوتاه شدن زنجیره‌های پلی‌پپتیدی بوده و نمونه حاصله دارای قدرت ژل و ویسکوزیته بیشتری بود (تیمار 5). در صورتی که در تیمار 19 (ضعیف‌ترین) به دلیل هیدرولیز بالای ژلاتین در $pH=2$ و در نتیجه کوتاه شدن و تخریب ساختار ژل در برابر برش مقاومت کمتری داشته و سریع‌تر تخریب می‌شود. این نتیجه با نتایج دامرونک ساکول (2008) که دریافتند با افزایش pH میزان اثر هیدرولیز آنزیم پاپائین بر روی زنجیره استخراجی کاهش یافته و در نتیجه استحکام ژل و ویسکوزیته بهبود می‌یابد، مطابقت داشت. همچنین با افزایش دما ویسکوزیته کاهش پیدا می‌کند (مرتضوی و همکاران، 1387). پس می‌توان نتیجه گرفت از آنجایی که تیمار 19 و نمونه تهیه‌شده به روش شیمیایی در دمای 50 درجه سانتی‌گراد استخراج‌شده در صورتی که تیمار 5 و 17 به ترتیب در دماهای 30 و 40 درجه سانتی‌گراد تهیه شده‌اند، دارای ویسکوزیته کمتری هستند.

هنگامی که میزان پروتئین‌هایی با وزن مولکولی بالا (همچون زنجیره β) در ژلاتین پایین باشد مقدار ویسکوزیته نیز کاهش می‌یابد (مجتهدی و همکاران، 1392). ژلاتین تهیه‌شده به روش شیمیایی دارای نسبت پایینی از زنجیره‌های β می‌باشد، همچنین دارای ویسکوزیته کمتری نسبت به تیمار 5 (نمونه قوی‌ترین) و تیمار 17 (نقطه مرکزی) تهیه‌شده به روش آنزیمی است (شکل 8). از این‌رو باید توجه داشت که تنوع طبیعی در ویسکوزیته می‌تواند به علت تفاوت در گوناگونی ماهی، محیط‌زیست، همچنین روش استخراج باشد (Shyni et al., 2014).

اسنپر چشم درشت و اثر آن بر توانایی تشکیل ژل گوشت چرخ شده ماهی را بررسی نمودند ویسکوزیته ابتدا به دلیل تنش برشی در نرخ‌های برشی پایینی افزایش یافت و سپس با افزایش نرخ برش ویسکوزیته شروع به کاهش کرد.

در مطالعه حاضر، با توجه به شیب کاهش ویسکوزیته (شکل 8) می‌توان دریافت که ویسکوزیته تیمار تهیه‌شده در دمای 30 درجه سانتی‌گراد و نسبت آنزیم 0/1% وزنی-وزنی و $pH=4$ (تیمار 5) دارای شیب کمتری نسبت به تیمار تهیه‌شده در دمای 50 درجه سانتی‌گراد و نسبت آنزیم 0/01% وزنی-وزنی و $pH=2$ (تیمار 19) و تیمار نقطه مرکزی تهیه‌شده در دمای 40 درجه سانتی‌گراد و نسبت آنزیم 0/055% وزنی-وزنی و $pH=3$ (تیمار 17) می‌باشد. در واقع تیمار 5 در برابر نرخ برش به دلیل توانایی در حفظ ساختار خود در سرعت‌های برشی بالا مقاومت بیشتری در برابر برش نسبت به تیمار 19 و 17 نشان داده است. در صورتی که تیمار 19 درحالی‌که در ابتدا در نرخ‌های برشی پایین مقاومت نسبتاً زیادی از خود نشان داد اما در نرخ‌های برشی بالاتر، با سرعت بیشتری ساختار خود را از دست داده و نمودار آن دارای شیب تندتری می‌باشد. همچنین باید متذکر شد که نمونه تهیه‌شده در نقطه مرکزی (تیمار 17) نسبت به تیمار 19 دارای ویسکوزیته بالاتری بوده و در نرخ‌های برشی بالا نسبت به تیمار 19 توانسته مقاومت بیشتری از خود نشان داده و در نتیجه نمودار آن شیب کندتری را دارا است. نمونه تهیه‌شده به روش شیمیایی دارای ویسکوزیته بیشتری نسبت به تیمار 19 بوده ولی نسبت به تیمار 5 و 17 دارای ویسکوزیته پایین‌تری می‌باشد. این بدین معناست که نمونه‌های تهیه‌شده به روش آنزیمی (به جز تیمار 19) در طول برش توانسته‌اند ساختار خود را بیشتر حفظ نموده و روند کاهش ویسکوزیته آن‌ها کندتر بوده است. بیشترین میزان شیب نمودار ویسکوزیته به

منابع

- مجتهدی، م.، معتمد زادگان، ع.، چگین، ف.، 1392، اثر زمانهای مختلف پیش فراوری اسیدی و قلیایی بر ویژگی‌های ژلاتین پوست ماهی خاویار ایرانی بلوگا (*Huso huso*). بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، آبان 1392.
- مرتضوی، ع.، مهجوریان، ن.، معتمد زادگان، ع.، 1387، بررسی خصوصیات رئولوژیکی ژلاتین فیل ماهی ایرانی (بلوگا استورژن). هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، مهر 1387.
- Abe, Y. and Krimm, S. (1972). Normal vibrations of crystalline polyglycine I. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 11(9), 1817-1839.
- Ahmad, M. and Benjakul, S. (2010). Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chemistry* 120(3):817-824.
- Al-Saidi, G., Al-Alawi A., Rahman, M. and Guizani N. (2012). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of extracted gelatin from shaari (*Lithrinus microdon*) skin: effects of extraction conditions.
- Asher, D. (1999). The transmissible spongiform encephalopathy agents: concerns and responses of United States regulatory agencies in maintaining the safety of biologics. *Developments in biological standardization*, 100, 103-118.
- Bailey, A.J., Paul, R.G. & Knott L. (1998). Mechanisms of maturation and ageing of collagen. *Mechanisms of ageing and development*, 106(1-2), 1-56.

- Benjakul, S., Oungbho, K., Visessanguan, W., Thiansilakul, Y. and Roytrakul S. (2009). Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. *Food Chemistry*, 116(2), 445-451.
- Binsi, P., Shamasundar, B., Dileep, A., Badii, F. and Howell N. (2009). Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 132-145.
- Damrongsakkul, S., Ratanathammapan, K., Komolpis, K. and Tanthapanichakoon, W. (2008). Enzymatic hydrolysis of rawhide using papain and neutrase. *Journal of industrial and Engineering Chemistry*, 14(2), 202-206.
- Doyle, B.B., Bendit, E. and Blout E.R. (1975). Infrared spectroscopy of collagen and collagen-like polypeptides. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 14(5), 937-957.
- Feng, W., Zhao, T., Zhou, Y., Li, F., Zou, Y., Bai, Sh., Wang, W., Yang, L., Wu X. (2013). Optimization of enzyme-assisted extraction and characterization of collagen from Chinese sturgeon (*Acipenser sturio* Linnaeus) skin. *Journal of Pharmacogn Mag*, 9, 32-37.
- Gilsenan, P. and Ross-Murphy, S. (2000). Rheological characterisation of gelatins from mammalian and marine sources. *Food Hydrocolloids*, 14(3), 191-195.
- Jridi, M., Nasri, R., Salem, R.B.S.-B., Lassoued, I., Barkia A., Nasri M. and Souissi N. (2015). Chemical and biophysical properties of gelatins extracted from the skin of octopus (*Octopus vulgaris*). *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 881-889.
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H. and Shahidi, F. (2010). Isolation and characterisation of collagen from the skin of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*). *Food Chemistry*, 119(4), 1519-1526.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680.
- Li, H., Liu, B., Gao, L. and Chen, H. (2004). Studies on bullfrog skin collagen. *Food Chemistry* 84(1), 65-69.
- Matmaroh, K., Benjakul, S., Prodpran, T., Encarnacion, A.B. and Kishimura, H. (2011). Characteristics of acid soluble collagen and pepsin soluble collagen from scale of spotted golden goatfish (*Parupeneus heptacanthus*). *Food Chemistry*, 129(3), 1179-1186.
- Nalinanon, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Kishimura, H. 2007. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry*, 104(2):593-601.
- Nalinanon, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Kishimura, H. (2008). Improvement of gelatin extraction from bigeye snapper skin using pepsin-aided process in combination with protease inhibitor. *Food hydrocolloids*, 22(4), 615-622.
- Norland, R. (1990). Fish gelatin. *Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability*, 325-333.
- Norziah, M., Al-Hassan, A., Khairulnizam, A., Mordi M. and Norita M. (2009). Characterization of fish gelatin from surimi processing wastes: Thermal analysis and effect of transglutaminase on gel properties. *Food hydrocolloids*, 23(6), 1610-1616.
- Payne, K. and Veis, A. (1988). Fourier transform IR spectroscopy of collagen and gelatin solutions: deconvolution of the amide I band for conformational studies. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 27(11), 1749-1760.
- Plepis, A. M. D. G., Goissis, G., & Das, Gupta, D. K. (1996). Dielectric and pyroelectric characterization of anionic and native collagen. *Polymer Engineering and Science*, 36(24), 2932-2938.
- Rao, M. and Kenny, J. (1975). Flow properties of selected food gums. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 8(3), 142-148.
- Sai, K.P. and Babu, M. (2001). Studies on Rana tigerina skin collagen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 128(1), 81-90.
- Shyni K., Hema G., Ninan G., Mathew S., Joshy C. and Lakshmanan P. (2014). Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). *Food Hydrocolloids*, 39, 68-76.
- Sims, T., Bailey, A. and Fieldt, D. (1997). The chemical basis of molecular weight differences in gelatins. *The Imaging Science Journal*, 45(3-4), 171-177.
- Tong, Y. and Ying, T. (2013). Gelling strength improvement and characterization of a gelatin from scales of bighead carp (*Aristichthys nobilis*). *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 11(1), 146-150.
- Yang, H., Wang, Y., Jiang M., Oh, J.H., Herring J. and Zhou P. (2007). 2-Step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin gelatin. *Journal of Food Science*, 72(4), C188-C195.
- Zhao, L., Budge, S., Ghaly, A., Brooks, M. and Dave, D. (2011). Extraction, purification and characterization of fish pepsin: a critical review. *Journal of Food Process Technol*, 2(6), 2-6.



A Comparative study on Physio-Chemical Properties of Recovered Gelatin from Beluga (*Huso huso*) fish skin by Enzymatic and Chemical Methods

Z. Eskandari¹, A. Jafarpour^{*2}

Received: 2018.12.17

Accepted: 2019.09.22

Introduction: Gelatin is a water-soluble protein mixture that is obtained by partial hydrolysis of collagen, which forms the major protein in bones, cartilage, and skin. Gelatin is made from collagen fibers, which is low in protein, cholesterol, fat and carbohydrates, with a special positive effect on human health. Gelatin is one of the most notable natural biopolymers, the most important source of this hydrocolloid is pig. Trying to find suitable gelatin supplements for food products is increasing. Fish gelatin is one of the most suitable mammalian gelatinous substitutes and is accepted as a Halal (Kosher) food item. The purpose of this study was to extract gelatin from sturgeon Beluga skin using pepsin enzyme and then investigate the effect of the enzyme on the improvement of physiochemical and its functional properties in comparison to the gelatin extracted by chemical method.

Material and Methods: *Pre-treatment and extraction of gelatin and application of factors*

Skin Preparation was performed according to Feng et al. (2013) with slight changes in pre-treatment steps. A solution of 3.5% NaCl was used to remove non-collagenic proteins and 0.5% sodium carbonate solution (Na_2CO_3) to remove lipid from the skin. The initial pretreatment was carried out with a solution of 3.5% sodium chloride at a rate of 1:10 w / v at a speed of 180 rpm for 6 hours which was replaced every 3 hours with the water. Extraction by was carried out following Tong et al. (2013) method. Gelatin was obtained from pre-treated skin in distilled water at temperature of 30, 40 and 50 degrees Celsius and a percentage of enzymes (0.01, 0.055 and 0.1) at different pH (2, 3 and 4) for 6 hours and 45 minutes in hot water bath. Then, the mixture was kept in the boiling water bath, for 5 minutes to inactivate the enzyme. The solution was passed through a cleaning cloth and then centrifuged at 3500 rpm for 20 min and finally was lyophilized in a freeze-drier. In this research, the Response surface methodology response (RSM) method was used to optimize the experimental treatments. The central composite rotatable design was used to optimize the gelatin enzyme extraction process.

Results and Discussion: The α chains were clearly visible in the sample extracted by the enzyme, with molecular weight of 130 kDa (treatment 5), while the α_2 chain is much weaker in the extracted gelatin by chemical method. By decreasing enzyme ratios, chains with molecular weights of less than 130 kDa disappeared gradually in chemical samples as well as in an enzyme-extracted sample (treatment 19). The gelatin extracted by the enzymatic method contains α_1 and α_2 chains. In the average amount of enzyme (treatment 17), the α_2 chains were relatively weaker than the maximum value of the enzyme (treatment 5), and these chains almost disappeared in the minimum amount of enzyme (treatment 19). These chains are weaker in the chemical extracted gelatin than that of treatment 5. Moreover, it can be seen that in the gelatin extracted by the enzymatic method, the ratio of the α_2 / α_1 chain is about 2 (the intrinsic ratio in collagen I), which shows that the inherent structure of gelatin is preserved.

The highest and lowest amidic wavelength A was obtained for treatment 17 and treatment 19, the highest and lowest wavelength amide I for treatment 5 and treatment 19, the highest and lowest amid II wavelengths for chemical extracted treatments and treatment 17, The highest and lowest ratio of amide III to amide 1454 is related to treatments 5 and 19, and the highest and lowest amount of amide B is related to treatment 19 and 5.

The behavior of the viscoelastic modulus of the treatments extracted with the pepsin enzyme (treatment 5, 17 and 19) and the chemically prepared sample showed that at temperatures lower than 20 ° C the storage or elastic modulus (G') and the loss or viscous modulus (G'') decreased with increasing temperature and the elastic modulus was larger than the loss modulus ($G' > G''$) indicating that the samples are still jelly-like (with the exception of treatment 19 that had the weakest gel strength).

In all gelatin samples extracted using pepsin and chemical method, first, a relaxation stress index (viscosity increase at the beginning of the graph), and then a thinning non-Newtonian behavior (pseudo-plastic) was obvious during the

1 M.Sc Graduate, Fisheries Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari-Iran.

2 Associate Professor, Fisheries Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari-Iran.

(* Corresponding author email address: a.jafarpour@sanru.ac.ir)

shear rate. In fact, in the behavior of pseudo-plastic, the viscosity of the fluid is related to the shear rate and has decreased with increasing shear rate. Non-Newtonian viscosity of treatments prepared by the enzymatic method (except treatment 19) was higher than that of the chemically prepared sample at different applied shear rate.

Keywords: Enzymatic extraction, Gelatin, *Huso huso*, SDS-PAGE, FTIR, Rheological behaviors

Contents

Effect of oil replacement with tofu and Persian gum on physicochemical, textural and rheological properties of Mayonnaise sauce	15
M. Mohammad Khani, M. Fazel	
Physical, mechanical and chemical properties of strawberry variety of Parus at different classes	27
F. Fatehi, A. Mahmoudi, A. Hosseinpour, H. Samimi Akhijahani	
Optimization of tomato compressed tablet production based on physical, mechanical and thermal properties in a hot air condition with microwave pretreatment	42
M. Rashidi, R. Amiri Chayjan, A. Ghasemi	
Interaction of antimicrobial properties of hydro-alcoholic extracts of Basil (<i>Ocimum basilicum</i>), Salvia (<i>Salvia officinalis</i>) and Cinnamon in Iranian yoghurt drink (doogh)	56
H. Shahsavar, M. Bolandi, H. Baghaei	
Textural profile analysis (TPA) of dried apple slices using infrared radiation with intermittent heating method	71
H. Sabbaghi, A. M. Ziaifard, M. Kashaninejad	
Optimization of Cantaloupe pudding formula through replacing <i>Spirulina platensis</i> and stevia with milk powder and sugar using response surface methodology (RSM)	84
E. Shafiee, M. Goli	
The effect of type (<i>Astragalus</i>, <i>Ziziphus</i>, <i>Citrus</i> and <i>Thyme</i>), and storage conditions on the most important qualitative characteristic of honey	101
F. Khodaiyan, H. Abbasi	
The effects of alcalase prepared silver carp (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>) skin hydrolysate on some quality features and oxidative stability of microencapsulated Kilka fish oil	115
S. H. Jalili, R. Farhoosh, A. Koocheki, A. A. Motallebi	
Chemical modification of chitosan through non-enzymatic glycosylation reaction to improve its antimicrobial and anti-oxidative properties	129
F. Shahidi, F. Tabatabaei, M. Noushkam, Z. Zarei, F. Fallah	
Synergistic effect of locust bean and xanthan gum on viability of probiotic bacteria and water holding capacity of synbiotic yogurt from camel milk	143
Zh. Sadat Ladjevardi, M. S. Yarmand, Z. Emam-Djome, A. Niasari-Naslaji	
Predicting quality characteristics of Mango of Kelk-e Sorkh variety using color image processing and artificial neural networks	156
O. Doosti Irani, A. Rohani, M. R. Golzarian, M. Shamili, P. Azarkish	
A Comparative study on Physio-Chemical Properties of Recovered Gelatin from Beluga (<i>Huso huso</i>) fish skin by Enzymatic and Chemical Methods	170
Z. Eskandari, A. Jafarpour	

Iranian Food Science and Technology Research Journal

Vol. 16

No. 1

2020

Published by: Ferdowsi University of Mashhad

Executive Manager: Shahnoushi, N.

Editor-in-Chief: Tabatabaei yazdi, F

Editorial Board:

Mortazavi, Seyed A.	Prof. in Food Microbiology and
Shahidi, F.	Prof. in Food Microbiology
Habibi najafi, M.	Prof. in Food Microbiology
Razavi, Seyed M. A.	Prof. in Food Engineering
Kashaninejad, M.	Prof. in Food Engineering
Khomeiri, M.	Assoc. Prof. in Food Microbiology
Farhoosh, R.	Prof. in Food Chemistry
Fazli Bazzaz, S.	Prof. in Food Microbiology
Koocheki, A.	Prof. in Food Technology
Mohebbi, M.	Prof. in Food Engineering
Ghanbarzadeh, B.	Prof. in Food Engineering
Alemzadeh, I.	Prof. in Food Biotechnology
Rajabzadeh, GH.	Assoc. Prof. in Nanotechnology
Heydarpour, M.	Assoc. Prof. in Food Microbiology
Ghoddusi, H. B.	Assoc. Prof. in Food Microbiology
Khosravidarani, K.	Prof. in Food Biotechnology
Abbaszadegan, M.	Prof. in Food Microbiology
Mohammadifar, M. A.	Assoc. Prof. in Food Engineering
Vosoughi, M.	Prof. in Food Biotechnology

Printed by: Ferdowsi University of Mashhad Press, Iran.

Address: The Iranian Food Science & Technology Research Journal, Scientific Publication Office, Food Science and Technology Department, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

P.O.BOX: 91775- 1163

Phone: (98)511-8795618-20(321)

Fax: (98)511-8787430

E-Mail: ifstrj@um.ac.ir

Web Site: http://jm.um.ac.ir/index.php/food_tech/index

This journal is indexed in ISC, SID, and MAGIRAN.

Contents

Effect of oil replacement with tofu and Persian gum on physicochemical, textural and rheological properties of Mayonnaise sauce	15
M. Mohammad Khani, M. Fazel	
Physical, mechanical and chemical properties of strawberry variety of Parus at different classes	27
F. Fatehi, A. Mahmoudi, A. Hosseinpour, H. Samimi Akhijahani	
Optimization of tomato compressed tablet production based on physical, mechanical and thermal properties in a hot air condition with microwave pretreatment.....	42
M. Rashidi, R. Amiri Chayjan, A. Ghasemi	
Interaction of antimicrobial properties of hydro-alcoholic extracts of Basil (<i>Ocimum basilicum</i>), Salvia (<i>Salvia officinalis</i>) and Cinnamon in Iranian yoghurt drink (doogh)	56
H. Shahsavari, M. Bolandi, H. Baghaei	
Textural profile analysis (TPA) of dried apple slices using infrared radiation with intermittent heating method	71
H. Sabbaghi, A. M. Ziaiiifar, M. Kashaninejad	
Optimization of Cantaloupe pudding formula through replacing <i>Spirulina platensis</i> and stevia with milk powder and sugar using response surface methodology (RSM)	84
E. Shafiee, M. Goli	
The effect of type (Astragalus, Ziziphus, Citrus and Thyme), and storage conditions on the most important qualitative characteristic of honey	101
F. Khodaiyan, H. Abbasi	
The effects of alcalase prepared silver carp (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>) skin hydrolysate on some quality features and oxidative stability of microencapsulated Kilka fish oil	115
S. H. Jalili, R. Farhoosh, A. Koocheki, A. A. Motallebi	
Chemical modification of chitosan through non-enzymatic glycosylation reaction to improve its antimicrobial and anti-oxidative properties	129
F. Shahidi, F. Tabatabaei, M. Noushkam, Z. Zarei, F. Fallah	
Synergistic effect of locust bean and xanthan gum on viability of probiotic bacteria and water holding capacity of synbiotic yogurt from camel milk.....	143
Zh. Sadat Ladjevardi, M. S. Yarmand, Z. Emam-Djome, A. Niasari-Naslaji	
Continue Content in cover	